

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHER VIRUSNACHWEIS
MITTELS NEGATIVKONTRASTIERUNG - RETROSPEKTIVE ANALYSE
DER METHODE ANHAND VON 412 FÄLLEN

RUDOLF HOCHENEDER

~~1987~~

Disbui. München

1988





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555407_0027

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
Direktor: Professor Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHER VIRUSNACHWEIS
MITTELS NEGATIVKONTRASTIERUNG - RETROSPEKTIVE ANALYSE
DER METHODE ANHAND VON 412 FÄLLEN

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Rudolf Hocheneder
aus
München

1987

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. Ch. Schmoeckel

Mitberichterstatter: Professor
Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco
Prof. Dr. F. Deinhardt

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 01. 88

Meinen Töchtern Lisa und Alena gewidmet

"Der Schönen Lippen, die vom Küssen träumen,
oft plagt die böse Mab mit Bläschen diese,
weil ihren Odem Näscherei verdarb."

(Shakespeare, Romeo und Julia I, 4)

Inhaltsübersicht

		Seite
1.0	<u>EINFÜHRUNG</u>	1
2.0	<u>DIE NEGATIVKONTRASTIERUNG</u>	4
2.1	Technisches Verfahren	4
2.2	Virusmorphologie bei der Negativkontrastierung	5
2.2.1	Herpesvirusgruppe	5
2.2.2	Pockengruppe	9
2.2.3	Hand-Fuß-Mundkrankheit	11
3.0	<u>CHARAKTERISTIK DER VIRUSINFEKTIONEN DER HAUT</u>	12
3.1	Herpesvirusgruppe	12
3.1.1	Herpes simplex Virus (HSV)	12
3.1.1.1	Virologie	13
3.1.1.1.1	Vermehrung	13
3.1.1.1.2	Latenz	16
3.1.1.2	Epidemiologie	16
3.1.1.3	Infektiosität	17
3.1.1.4	Klinische Manifestation	18
3.1.1.5	Rezidive	20
3.1.2	Varizella-Zoster Virus (VZV)	22
3.1.2.1	Varizellen	22
3.1.2.1.1	Klinik-Epidemiologie-Infektiosität	22

	Seite
3.1.2.1.2 Virologie	24
3.1.2.1.2.1 Latenz	24
3.1.2.2 Zoster	25
3.2 Pockengruppe	26
3.3 Hand-Fuß-Mundkrankheit	28
4.0 <u>DIAGNOSTISCHE METHODEN BEI HERPESINFEKTIONEN</u>	29
4.1 Klinisches Bild	32
4.2 Direkte Untersuchung der klinischen Proben	32
4.2.1 Lichtmikroskopie (Zytologie, Histopathologie)	33
4.2.2 Elektronenmikroskopie (EM), Negativkontrast- technik	34
4.2.3 Identifizierung von Herpesviren mit Hilfe von HSV-Antikörpern	35
4.3 Virusisolierung, Identifikation und Typisierung	36
4.3.1 Virusisolierung	36
4.3.2 Virusidentifikation	37
4.3.3 Virologische Typisierung	38
4.4 Serologie	39
4.5 Interpretation der diagnostischen Verfahren	41
5.0 <u>UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODIK</u>	42
5.1 Patientengut	42
5.2. Elektronenmikroskopische Beurteilung	43
5.3. Gliederung der einzelnen Viruskrankheiten der Haut	43
5.3.1 Herpesvirusgruppe	43

	Seite
5.3.1.1	Herpetische Primärmanifestationen 43
5.3.1.2	Herpetische Sekundärmanifestationen 44
5.3.2	Pockengruppe 44
5.3.3	Hand-Fuß-Mundkrankheit 44
5.4	Kriterien zur Sicherung der klinischen Diagnose bei Herpeserkrankungen 44
5.4.1	Anamnese 44
5.4.1.1	Eigenanamnese 45
5.4.2	Spezieller Befund 45
5.4.3	Verlauf 45
5.4.3.1	Zeitlicher Verlauf 45
5.4.3.2	Nachfolgende klinische Erscheinungen 46
5.4.4	Sicherer Nachweis einer anderen Diagnose 47
5.4.5	Komplementbindungsreaktion (KBR)-Serologie 47
5.5	Definitionen 48
6.0	<u>ERGEBNISSE</u> 49
6.1	Gesamter Elektronenoptischer Virusnachweis 49
6.2	Prozentuelle Verteilung der einzelnen Krankheiten aus dem Patientengut 49
6.3	Geschlechts- und Altersverteilung der auf Herpesverdacht untersuchten Patienten 52
6.3.1	Primär- und Sekundärmanifestationen der klinisch hochwahrscheinlich an Herpes Erkrankten 55
6.3.1.1	Betrachtung der verschiedenen Herpeskrank- heiten 58

6.4.	Unklare Fälle	61
6.5	Fehlerbetrachtung bei der Negativkontrastierung	62
6.5.1	Häufigkeit der "falsch-negativ"- und "falsch-positiv"- Ergebnisse bei der Negativkontrastierung	62
6.5.1.1	Prozentuelle Verteilung der "falsch-negativ" Ergebnisse	62
6.5.1.2	"falsch-negativ"-Betrachtung	66
6.5.1.3	"falsch-positiv"-Betrachtung	68
6.6	Übersicht der wichtigsten Ergebnisse	69
6.6.1	Durch Negativkontrastierung untersuchtes und nach Verdachtsdiagnose geordnetes Patientengut	69
6.6.2	Häufigkeit und Verteilung der Herpes-Erkrankungen	69
6.6.3	Herpetische Primär- und Sekundärmanifestationen	69
6.6.4	Mittels Negativkontrastierung untersuchtes Herpes-Patientengut	70
6.6.5	Fehlerquote bei der Negativkontrastierung	71
6.6 5.1	Fehlerbetrachtung beim Herpes-Patientengut	71
6.6.6	Diagnostische Beurteilung der Negativkontrastierung bei Herpesviruserkrankungen	72
7.0	<u>DISKUSSION DER ERGEBNISSE</u>	73
7.1	Fehlermöglichkeiten bei der elektronenmikroskopischen Herpesvirendiagnostik	73
7.1.1	Materialentnahme	73
7.1.2	Mikroskopische Beurteilung	80

		Seite
7.1.3	Befundübermittlung und Interpretation	80
7.1.4	Semantische Fehler	81
7.2	Anamnesefehler bezüglich herpetischen Primär- und Sekundärmanifestationen	82
8.0	<u>ZUSAMMENFASSUNG DER DISKUSSION UND ERGEBNISSE</u>	84
9.0	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	87
10.0	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	90
11.0	<u>LEBENS LAUF</u>	104



1.0

EINFÜHRUNG

"No case of recurrent herpes of the vulva has been seen amongst the hundreds of cases of vulvar skin infections who have come under my personal observation... herpetic eruptions in woman due to sexual congress are a rare occurrence."

Vor 32 Jahren machte Elisabeth Hunt, eine prominente englische Gynäkologin, diese Aufzeichnung in ihrem Buch: "Diseases Affecting the Vulva" (81).

Das Center for Disease Control in Atlanta schätzte 1982 die Zahl der jährlichen Herpes simplex-Neuerkrankungen in den USA auf 500.000, 5-14 Millionen Menschen litten an Rezidiven und 30 % der sexuell aktiven amerikanischen Bevölkerung war dem Risiko einer genitalen Herpes simplex Infektion ausgesetzt (86).

Warum hat die Häufigkeit der Herpes genitalis Infekte so erstaunlich zugenommen? - Diskutiert werden eine größere sexuelle Freiheit und Promiskuität (Risikominderung einer unfreiwilligen Schwangerschaft durch Pille und Abbruch), geringere Verwendung von Präservativen, veränderte sexuelle Praktiken, Anhebung des sozio-ökonomischen Status im Bevölkerungsquerschnitt.

Während über beitragende Faktoren spekuliert wird, bekamen die Möglichkeiten der Virusdiagnostik neue Brisanz. Eine sichere,

aber auch schnelle und kostenbewußte Methode war zu finden. Denn für die effektive antivirale Chemotherapie ist die schnelle und treffsichere Diagnostik eine unabdingbare Voraussetzung, da die Kenntnis des auslösenden Agens der Erkrankung für klinischen Verlauf, Prognose und Therapieentscheidung von wesentlicher Bedeutung sein kann.

1976 griffen Wolff und Gräser die elektronenmikroskopische Schnelldiagnostik im Negativkontrastverfahren bei Viruserkrankungen der Haut auf und verfeinerten sie (202). An der Dermatologischen Klinik in München entwickelte sich dieser Virusnachweis zu einer wichtigen Laboruntersuchung. Er ist technisch einfach, Verarbeitungsfehler sind nahezu ausgeschlossen, und liefert das Ergebnis innerhalb einer Stunde.

91,5 % des hier untersuchten Patientenguts war verdächtig von Herpesviren infiziert zu sein. Häufig bleiben die durch sie hervorgerufenen Infektionen inapparent oder verlaufen subklinisch, aber es können auch eine Vielzahl von z.T. ernsthaften Erkrankungen auftreten.

Mit der derzeitigen Häufigkeit des Herpes genitalis von 0,3 % der Gesamtbevölkerung wird auch der Herpes neonatorum mehr beachtet. Die Infektion erfolgt, zumeist auf dem Geburtsweg durch infiziertes mütterliches Genitalsekret, mit einem Vorkommen von 1 auf 7.500 Geburten und hat eine hohe Morbititäts- und Mortalitätsrate. Für die Diagnostik wird vor allem die Forderung nach einem schnellen Ergebnis gestellt. Überlegen ist neben der direkten Immunfluoreszenz die Negativkontrastierung (45, 128, 176).

Mit der längeren Lebenserwartung und der Zunahme immunsupprimierter und immundefizienter Patienten gewinnen vor allem die Rezidive z.B. der Zoster an Bedeutung. Erfolgte Virusinvasion des Gehirns nimmt einen ungewöhnlichen und meist tödlichen Infektions-

verlauf beim supprimierten Patienten. Durch die elektronenmikroskopische Negativkontrastierung des Liquors wurden Herpesviruspartikel nachgewiesen (172).

Beim routinemäßigen Einsatz der Negativkontrastierung zeigten sich für den Kliniker gelegentlich Differenzen zwischen dem elektronenmikroskopischen Befund und dem tatsächlichen klinischen Bild bzw. Verlauf einer Erkrankung. So war bei einer Anzahl klinisch eindeutig positiver Herpesinfektionen das elektronenmikroskopische Ergebnis negativ, - es konnten keine Herpesviren im Präparat nachgewiesen werden.

Die vorliegende Arbeit untersucht diese Diskrepanzen und interpretiert die elektronenmikroskopischen Falschergebnisse anhand von Aktenstudien und wissenschaftlichen Erkenntnissen.

2.0 DIE NEGATIVKONTRASTIERUNG

2.1 Technisches Verfahren

Als Ergebnis von Reihenversuchen aus einer früheren Dissertation (202) empfiehlt sich folgendes Vorgehen:

Anstechen des Herpesbläschens mit einer sterilen Kanüle, Aufbringen eines Tropfens Sekret auf einen Glasobjektträger (ohne dies auszustreichen) mit anschließender Lufttrocknung.

Das eingetrocknete Material wird mit einem Tropfen sterilen Aqua dest. aufgeschwemmt. Ein elektronenmikroskopisches Objektträgernetz, das mit Formvarfolie befilmt ist, wird mit der Schichtseite auf die Aufschwemmung gelegt, sofort abgenommen und getrocknet.

Ein Tropfen Kontrastierlösung (2%ige Phosphorwolframsäure, pH 6,8) wird auf eine Dentalwachsplatte pipettiert und das Objektträgernetz mit der Schichtseite aufgelegt. Nach 30 s wird das Netz abgenommen und mit einem Filterpapier die überschüssige Flüssigkeit vom Rand her vorsichtig abgesaugt. Nach kurzer Trocknung ist das Präparat zur Untersuchung im Elektronenmikroskop bereit. Die Durchmusterung des Präparates erfolgt bei einer Vergrößerung von 20.000, die endgültige Diagnostik wird bei einer Vergrößerung bis zu 50.000 getroffen.

2.2 Virusmorphologie bei der Negativkontrastierung

2.2.1 Herpesvirusgruppe

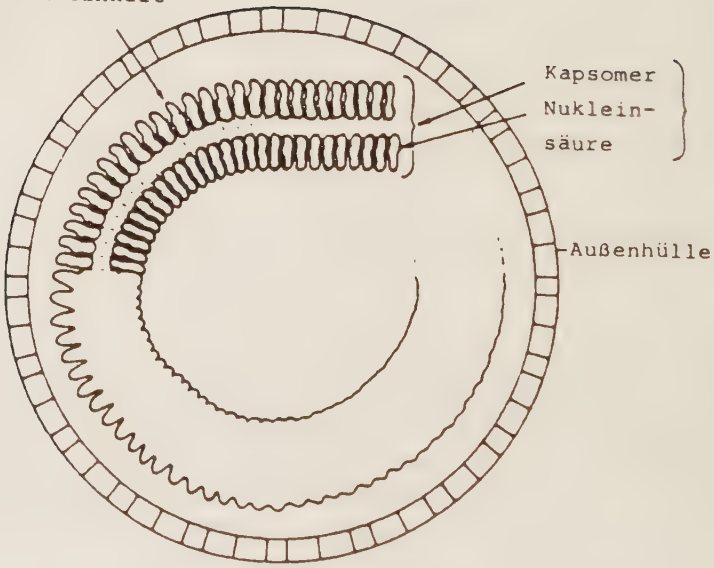
Von den vier bei Menschen auftretenden Herpesviren sind zwei gut bekannt; das Herpes simplex - Virus (HSV) Typ I und - Typ II, sowie das Varizella-Zoster-Virus (VZV). Die anderen beiden Herpesviren, das Zytomegalie-Virus (ZMV) und Epstein-Barr-Virus (EBV) sind ebenso verbreitet wie HSV und VZV (72, 76, 98, 157, 195) werden aber nicht so oft erkannt, weil die von ihnen hervorgerufenen Infektionen (Zytomegalie durch ZMV und infektiöse Mononukleose durch EBV) weniger häufig sind (44, 79, 92, 94, 112, 114, 168).

Wenn in dieser Arbeit ZM- und EB- Viren nicht berücksichtigt werden, so deshalb weil keiner der untersuchten Patienten infiziert war.

Für den interessierten Leser wird auf obige Veröffentlichungen hingewiesen (128).

Die Herpesviren sind morphologisch voneinander nicht zu unterscheiden (13, 73). Sie bestehen aus vier Grundelementen. Zentral erkennt man einen meist runden, hell oder dunkel (mit oder ohne DNS) erscheinenden Innenkörper, der als Nukleokapsid bezeichnet wird. Er besteht aus dem Nukleoid, das die doppelsträngige DNS birgt und einem umhüllenden Kapsid, das aus 162 Kapsomeren "strahlenkranzförmig" gebildet wird und ihm die Form eines Ikosaeders geben. Eine schematische Darstellung der Morphologie eines Herpesvirus zeigen die folgenden zwei Abbildungen (In Anlehnung an Starke, G., P. Hlinak: Grundriß der Allgemeinen Virologie. Fischer, Stuttgart 1972)

Struktureinheit



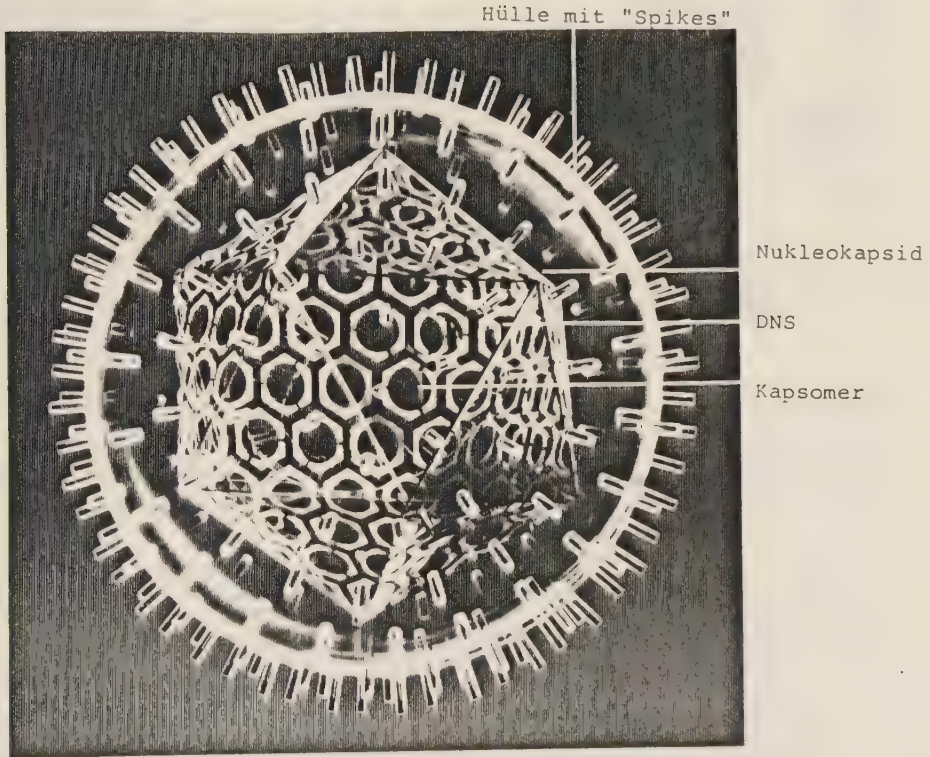
Kapsomer

Nukleinsäure

Nukleokapsid

Außenhülle

Schema eines Herpesvirus. (Mit freundlicher Genehmigung der Deutschen Wellcome GmbH.)



Das Nukleodkapsid hat einen Durchmesser von etwa 100 nm und ist meist von einer Kapsidhülle umgeben, die je nach Art des Herpesvirus in ihrer Größe variiert. So beträgt der mittlere Gesamtdurchmesser einschließlich Hülle bei Herpes simplex-Viren ca. 180 nm, bei Varizellen-Zoster-Viren ca. 200 nm. Mehrere Nukleokapside können eine gemeinsame Hülle besitzen (Abb. a-d) (65, 119, 126, 133, 191, 199).

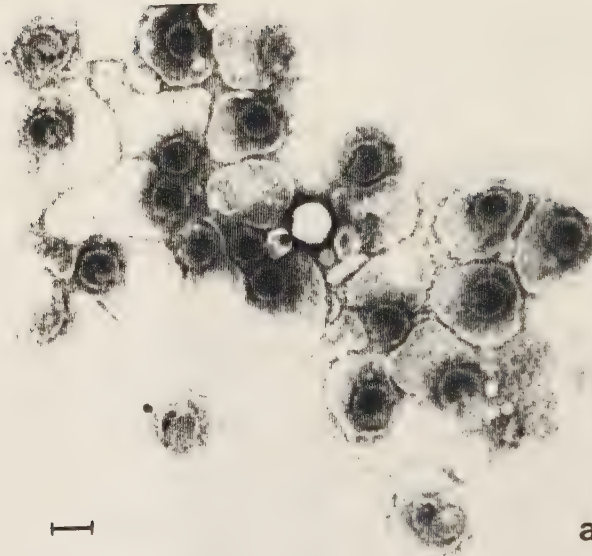


Abb. a: Herpes-Viren (Herpes simplex).
Übersichtspräparat.
75000:1.  = 100 nm.

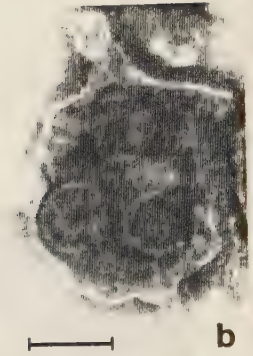


Abb. b: Herpes Virus
(Herpes genitalis).
Drei Nukleokapside
in einer gemeinsa-
men Hülle.
150000:1.
 = 100 nm.

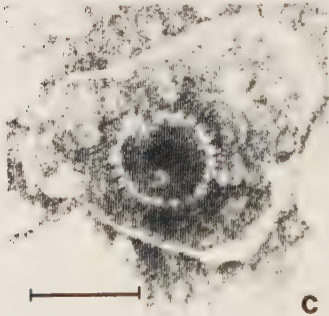


Abb. c: Varizellen-Zoster-Virus.
200000:1.  = 100 nm.

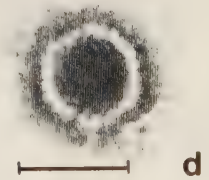


Abb. d: Herpes Virus
(Herpes genitalis).
"Nacktes" Nukleo-
kapsid, die Hülle
fehlt.
200000:1.
 = 100 nm.

2.2.2 Pockengruppe

Die vorliegende Untersuchung befaßt sich mit dem Molluscum-contagiosum-, dem Ecthyma-contagiosum (Orf)-Virus und dem Melkerknoten. Es handelt sich um Quaderviren, die bei der Negativkontrastierung nach Größe und Oberflächenstruktur differenziert werden.

Die Beurteilung der einzelnen Krankheitsbilder erweist sich durch die typischen klinischen Erscheinungen als diagnostisch problemlos. Ebenso eindeutig ist auch der elektronenmikroskopische Virusnachweis, der einen wesentlichen Schlüssel zur Diagnose liefert.

Das Molluscum-contagiosum-Virus ist das größte Virus dieser Gruppe und mißt ca. 210 bis 280 x 300 bis 320 nm im Durchmesser (Abb.e). Die Oberfläche zeigt unregelmäßig erscheinende Filamente, die Textur erinnert an ein "Garnknäuel" (199).

Das Ecthyma-contagiosum-Virus (Orf) ist von ovaler Form und ca. 160 x 260 nm groß. Die Oberfläche zeigt ein relativ regelmäßiges, charakteristisches, "kreuz und quer gewebtes" Muster (Abb. f) das durch Überlagerung von schraubenförmig gewundenen parallelen Filamenten entstehen soll (65, 123, 124).

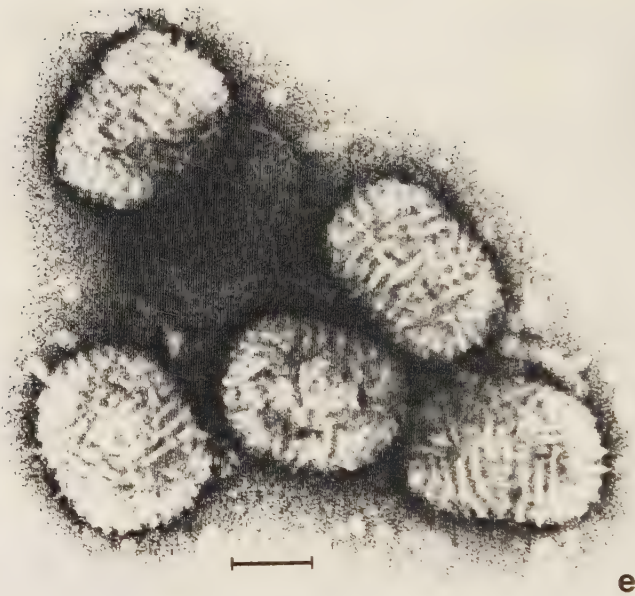


Abb. e: Molluscum-contagiosum-Viren.
Die Textur ist einem Garnknäuel sehr ähnlich.
150000:1. —|— = 100 nm.

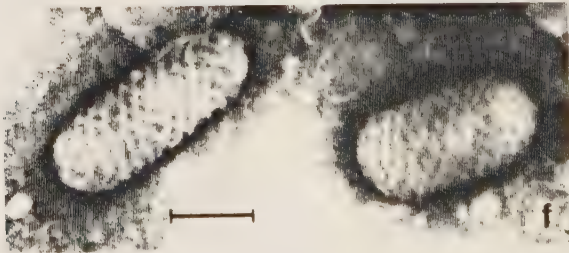


Abb. f: Ecthyma-contagiosum (Orf)-Viren. Die Oberfläche zeigt ein "kreuz und quer gewebtes" Muster.
150000:1. —|— = 100 nm.

Der Melkerknoten kann vom klinisch und histologisch ähnlichen Ecthyma contagiosum (Orf) durch den Kontakt mit Schafen (Orf) oder Rindern (Melkerknoten) anamnestisch unterschieden werden. Elektronenmikroskopisch zeigen beide Viren das gleiche Bild (87, 99, 150, 151). Die Erkrankung wird durch Paravakzinaviren verursacht, die von den an Enteropocken erkrankten Rindern übertragen wird.

2.2.3 Hand-Fuß-Mundkrankheit

Die Hand-Fuß-Mundkrankheit wird hauptsächlich durch Coxsackie A-16-Virus verursacht, in sporadischen Fällen wurde der Nachweis von Coxsackie A 5 (51), A 10 (29, 40), A 9 (80) und Coxsackie-Viren Typ B 2 und B 5 (104) erbracht.

Die Diagnose fällt aufgrund des klinischen Bildes, der kleineren Epidemien, auch innerhalb einer Familie, ferner Virusnachweis aus Rachenspülwasser und Anstieg der neutralisierenden Antikörper im Blutserum.

Coxsackie-Virusexantheme sind klinisch nicht genau abgrenzbar und machen daher differentialdiagnostisch Schwierigkeiten. Sie können an Röteln, Exanthema subitum, Varizellen und Arzneimittlexantheme erinnern. Eine elektronenmikroskopische Darstellung von Coxsackie A 16 Viren konnte in der Literatur gefunden werden (60).

3.0 CHARAKTERISTIK DER VIRUSINFEKTIONEN DER HAUT

3.1 Herpesvirusgruppe

3.1.1 Herpes simplex Virus (HSV)

Herpes simplex-Infektionen werden durch das Herpes simplex hominis-Virus, von dem man Typ I und Typ II unterscheidet verursacht. HSV I- und HSV II - DNS ließen sich durch Restriktionsenzym-Elektrophorese differenzieren. Beide HSV-Typen haben lineare und doppelsträngige DNS, aber das Molekulargewicht der DNS variiert von 100×10^6 bis 150×10^6 Dalton. Weiterhin unterscheiden sie sich in Zahl und Länge der einzelnen und sich wiederholenden Sequenzen. Die DNS des HSV-Typ I und des HSV-Typ II besitzen zu etwa 50 % gleiche Sequenzen (23, 71).

Die Erkrankung gehört zu den häufigsten Infektionskrankheiten des Menschen und befällt die verschiedensten Organe wie Mund, Augen, Haut, Urogenitaltrakt oder ZNS (188).

Das auffälligste Charakteristikum der Herpes-Infektion sowohl im Schleimhaut- als auch im Hautbereich ist seine ausgesprochene Rezidivneigung. Die komplexe Ätiologie und Pathogenese einer Herpeserkrankung ist für die Aufklärung dieser Arbeit von entscheidender Bedeutung.

3.1.1.1 Virologie

3.1.1.1.1 Vermehrung

Die Biosynthese neuer Viren wird meist dokumentiert durch in vitro-Studien mit Gewebekulturen (126).

Die konträre Deutung elektronenmikroskopischer Beobachtungen ist symptomatisch für jedes einzelne Stadium der Virusvermehrung. Bereits bei der Penetration des Virus in die Zelle gibt es zwei Theorien: Die Fusion der Virushülle mit der Plasmamembran oder einen pinozytoseähnlichen Vorgang (109, 126, 148).

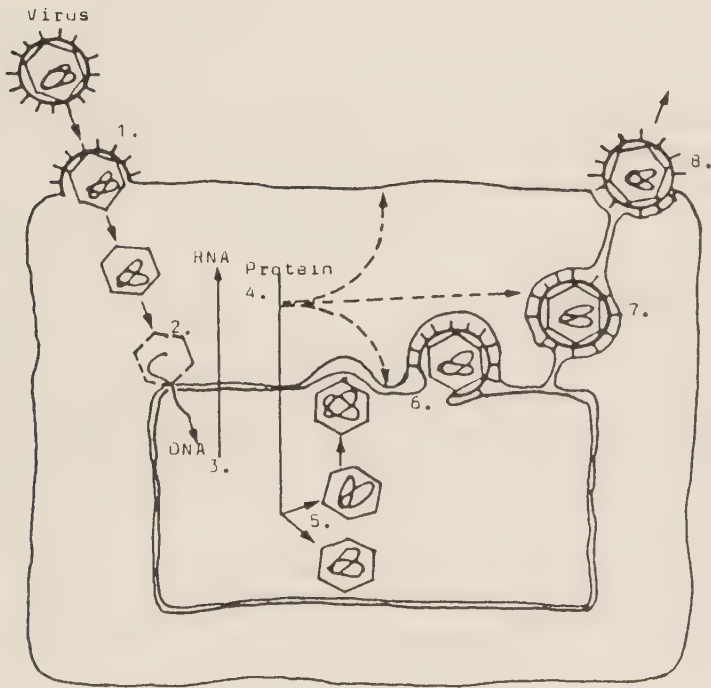
Das Prinzip einer Virusreplikation beschreibt der folgende Abschnitt:

Um sich zu vermehren, muß das HSV in die Wirtszelle eindringen und die Enzyme des Wirtes zur Duplizierung seiner eigenen DNS verwenden. Wenn das Virus in die Wirtszelle penetriert, verliert es seine Hülle. Im Zytoplasma zerfällt das Kapsid und ermöglicht der Virus-DNS, in den Zellkern einzudringen. Die auf der Virus-DNS kodierten Enzyme und Strukturproteine werden unter Verwendung des Replikationsapparates der Wirtszelle produziert. Das viruskodierte Enzym, Thymidinkinase, bewirkt zusammen mit Zellenzymen die De-novo-Synthese viraler DNS. Die neu produzierten DNS-Moleküle werden in Kapside verpackt, die von viruskodierten Strukturproteinen gebildet werden. Diese Duplikate des Virus erhalten Hüllen, während sie die Kernmembrane passieren. Komplette Viren gelangen direkt in andere Zellen, ohne den Extrazellulärraum zu durchqueren und vermeiden auf diese Weise den Kontakt mit Antikörpern (Abb. 1) (126, 155, 156).

Abb.1: Replikation eines Herpesvirus in der Wirtszelle.

1. Fusion: Das Virus dringt in die Zelle ein. Dabei fusioniert wahrscheinlich die Zellmembran mit der Virushülle.
2. Uncoating: Das Kapsid (Eiweißhülle) löst sich auf und die virale DNA gelangt in den Kern,...
3. Transkription:.wo sie transkribiert wird.
4. Replikation und Proteinsynthese: Die RNA-Abschriften werden ins Zytoplasma transportiert, wo die virus-kodierte Proteinsynthese beginnt. Einige von der viralen DNA kodierten Proteine wandern in den Zellkern, andere binden an die Zellmembran der infizierten Zelle.
5. Reifung: Die neugebildeten DNA-Moleküle umgeben sich im Zellkern wieder mit Kapsiden.
6. Coating: Bei der Passage in das Zytoplasma werden die Kapside von der inneren Kernmembran eingehüllt.
7. Ansammlung: Die Viren akkumulieren zwischen der inneren und äußeren Kernlamelle und in den Zisternen des endoplasmatischen Retikulums.
8. Virusfreisetzung: Die vollständigen Viren werden dann aus der Zelle freigesetzt und können andere Zellen infizieren.

Replikationsmechanismus des Herpesviren



3.1.1.1.2 Latenz

Herpes simplex-Viren (HSV) wurden im peripheren und zentralen Nervensystem nach vaginaler Infektion der Maus nachgewiesen (155).

Während einer primären HSV-Infektion gelangt das Virus in lokale Nervenendigungen am Ort der Infektion, wobei die äußere Hülle fusioniert. So wandert nur das Nukleokapsid zum entsprechenden regionären Ganglion (zum Ganglion trigeminale bei Orofazialinfektionen und zum Ganglion sacrale bei Genitalinfektionen), wo es in einem inaktiven Zustand verbleibt. Während dieser Latenzzeit ist das Virus kaum nachweisbar (12, 15, 23, 86, 126, 155, 156).

Kommt der Körper in eine Periode von physischen oder psychischen Streß, wandert das Virus den peripheren Nerv hinunter und ruft ein Rezidiv hervor, das sich oft im gleichen Bereich wie beim Primärbefall lokalisiert.

3.1.1.2 Epidemiologie

Zu den klinisch apparenten und inapparenten Infektionen mit HSV kommt es meist in den ersten Lebensjahren. Serologische Untersuchungen deuten darauf hin, daß 80 - 90 % der Erwachsenen HSV ausgesetzt waren, jedoch nur 30 % haben rekurrente Infekte (24, 88, 102, 162, 197).

Die Häufigkeit der Herpes simplex-Erkrankungen variiert nach:

- zivilisatorischen Faktoren
- Bevölkerungsdichte
- Änderung der sexuellen Praktiken
- jahreszeitlichen Faktoren

3.1.1.3 Infektiosität

Herpes simplex-Viren werden gewöhnlich durch direkten Kontakt mit einem Menschen, der gerade aktive Läsionen hat, übertragen (Tröpfcheninfektion).

Welche Rolle asymptomatische Virusausscheidung für die Übertragung von Herpeserkrankungen spielt, ist schwer zu beurteilen (69, 86, 198). Vor allem bei Herpes genitalis wurde die asymptomatische Virusausscheidung beobachtet (1).

So überwachten Ärzte aus der Abteilung für Geburtshilfe und Gynäkologie am Baylor Collage of Medicine, Houston, drei Frauen mit Herpes genitalis recidivans. Die letzten Erkrankungen dieser Frauen lagen zwei, sieben und zwanzig Monate vor einer Studie über einen Zeitraum von 30 Tagen, in denen täglich cervicovaginale Abstriche gemacht wurden. Bei allen drei Frauen wurden während der 30-tägigen Studie zweimal oder öfter Herpes simplex-Viren entdeckt (1).

In zwei größeren Untersuchungen (144, 200) waren 14 % und 24 % der von Frauen ohne auffindbare genitale Läsionen entnommenen Cervix und/oder Vagina-Kulturen HSV-positiv.

2 bis 10 % der erwachsenen Bevölkerung scheiden außerdem periodisch HSV in den Speichel aus (24, 39, 69).

Es ist auch möglich, daß Patienten das Virus von einer Lokalisation auf eine andere selbst übertragen, ein sog. Inokulations-Herpes.

Das Virus überlebt außerhalb des Körpers keine längere Zeit, und eine Übertragung durch Handtücher oder Toilettensitze ist höchst unwahrscheinlich.

Da bei einem Erythema exsudativum multiforme (EEM) eine postherpetische Genese möglich ist, wurde bei einer etwaigen Verdachtsdiagnose auch hier nach Herpesviren gefahndet (126, 129). Besonders häufig wird das EEM durch Herpes labialis recidivans (HSV-Typ I) verursacht (3, 53, 129, 159). Aber auch von HSV-Typ II-assoziierten EEM wurde berichtet (Herpes genitalis recidivans) (3).

Ein EEM, das einer primären Herpes simplex - Infektion folgt, ist nicht dokumentiert (25, 82). Auch kann beispielsweise eine sekundäre Pilzinfektion die herpetische Krankheitsursache überdecken.

3.1.1.4 Klinische Manifestation

Herpes simplex-Infektionen können ein Spektrum klinischer Krankheitsbilder hervorrufen, das von asymptomatischer Virusausscheidung bis zur schweren Erkrankung mit ausgedehnten Ulcerationen, Unwohlsein, Fieber und meningealer Reizung (ca. 4 % der Herpes genitalis-Infekte) reicht (85, 188).

Die Erkrankung hat zwei verschiedene Phasen, die Initialinfektion und das Rezidiv, dazwischen ist die Infektion latent (10).

Am häufigsten findet man Herpes simplex in der Umgebung der grossen Körperöffnungen:

Vor allem an den Lippen und am Naseneingang (Typ I) und am Penis (Glans und sulcus coronarius), an der Vulva und am Perineum (Typ II).

Weitere Lokalisationen: Wangen, Ohr, Augen, Gesäß, Hand- und Fingerrücken sind seltener befallen.

Herpes corneae kann in die langwierige und gefürchtete Keratitis disciformis übergehen.

Die Symptome treten zwei bis zehn Tage nach Exposition auf. Beide Virustypen rufen eine klinisch nicht unterscheidbare Krankheit hervor. Personen mit HSV I-Antikörper können sich auch mit HSV II infizieren, die Erkrankung ist jedoch in der Regel weniger schwer und von kürzerer Dauer (10, 30, 86).

Vor dem Erscheinen von Läsionen können beim Patienten Prodromalsymptome auftreten. Diese reichen von einer milden Parästhesie, einem Spannen oder Brennen an der betroffenen Lokalisation das bis zu 24 Stunden dauert, bis zu einer Neuralgie im Gesäß oder in der Leiste (Herpes genitalis) oder im Gesicht- oder Halsbereich (Zoster). Prodromalsymptome erleiden ca. 50 bis 70 % der Patienten und können bei Primär- und Sekundärinfektionen vorkommen (10, 167).

3.1.1.5 Rezidive

Rezidivierende Herpeserkrankungen findet man am häufigsten im Bereich der Lippen oder des Gesichtes, sowie am äußeren Genital- und Glutealbereich. Die Zahl und der Schweregrad von Rezidiven schwanken beträchtlich von Patient zu Patient (141).

Das Grundproblem der Herpesinfektionen sind die Rezidive. Sie sind überwiegend als endogene Rekurrenzen der latent persistierenden Virusinfektion in spinalen und autonomen Ganglien zu verstehen. Die nachfolgenden Erkenntnisse wurden auch im Tierexperiment nach vaginaler Infektion von Mäusen mit HSV-I bestätigt (155).

Für die Rezidivrate ist die Quantität der Ganglien-Besiedelung des HSV mitentscheidend. Sie hängt vom Ausmaß der Virusproduktion auf der Schleimhaut ab (86, 126, 146, 155). Zu unterscheiden sind das endogene Rezidiv und die exogenen Reinfektionen.

Ersteres wird durch das Zusammenwirken folgender Faktoren ausgelöst:

1. Quantität und Virulenz des persistierenden Virus.
2. Äußerer (Nervenirritation) und innerer (Fieber, Streß, Hormone) Anlaß.
3. Immunologische Defizienz.
4. Bereitschaft des Organismus auf Virusvermehrung mit Entzündung zu reagieren.

Bei der exogenen Reinfektion spielen neben der allgemeinen Immunität noch periphere lokale Immunmechanismen eine Rolle (126, 156, 188).

Ebenfalls an Mäusen (Maus-Ohr-Modell) wurden mögliche Mechanismen die einen rekurrenten Herpes simplex induzieren erforscht (75). Eine Anzahl effektiver Stimuli (u.a. UV-Licht, Injektionstrauma, Essigsäure) kamen nach 3 Hypothesen zur Testung. Der Ganglion-Trigger-Theorie, der Haut-Trigger-Theorie und einer Mischung aus beiden. Letztere Möglichkeit dürfte der Wahrheit am nächsten liegen.

Rezidivierende Läsionen sind kleiner, weniger schmerzhaft und von kürzerer Dauer (4-7 Tage) als die Primärinfektionen (10, 38, 50, 126, 132, 167, 188).

Gewöhnlich treten Rezidive herdförmig nahe oder an der Stelle des ersten Befalls auf. Herpes genitalis - Erkrankungen sind bei vorausgegangener HSV I - Infektion milder im Verlauf (86, 141, 161).

Wesentlich schwerer ist die klinische Symptomatik bei Patienten mit Immundefiziten, z.B. bei hämatologischen oder lymphoretikulären Malignomen, oder bei Patienten die unter immunsuppressiver Therapie stehen (175).

Bei diesen Personen entwickeln sich die Läsionen aus einzelnen Bläschen zu großen oberflächlichen Erosionen, die über zwei oder mehr Wochen sistieren. Das Virus ist aus diesen Läsionen lange nachweisbar. Organbefall bei solch schweren Herpesinfektionen ist beschrieben, der Ausgang der Erkrankung in einigen Fällen tödlich (143).

3.1.2 Varizella-Zoster-Virus (VZV)

Obwohl es nicht möglich ist, die im menschlichen Körper befindlichen Herpesviren morphologisch zu differenzieren (201), unterscheiden sie sich dennoch in Größe, Molekulargewicht der DNS und in deren Sequenzen (65, 133, 191, 199).

Elektronenmikroskopisch kann zwischen HSV und VZV nicht unterschieden werden (22, 71, 83, 128).

Die bei Varizellen und Zoster isolierten Erreger verhalten sich strukturell und biologisch identisch, beide Krankheiten werden durch dasselbe Virus ausgelöst (11, 20, 55, 147, 193). - So erklären sich auch folgende Vorkommnisse:

- Auslösung von Zosterinfektion bei Erwachsenen durch Kontakt mit einem an Varizellen erkrankten Kind,
- Auslösung von Varizellen bei Kindern durch Kontakt mit einem Zosterpatienten,
- Ansteckung eines Patienten mit Zoster durch einen Zosterpatienten im gleichen Krankenzimmer.

3.1.2.1 Varizellen

3.1.2.1.1 Klinik-Epidemiologie-Infektiosität

Die Primärinfektion des VZV, die Varizellen, tritt vorwiegend im Kindesalter auf (2. bis 6. Lebensjahr). Aber auch Erwachsene können Windpocken bekommen, falls sie in der Jugend noch keine Windpocken durchgemacht haben.

Nach einer Inkubationszeit von etwa 14 - 17 Tagen erscheint das Exanthem. Es beginnt mit großer Regelmäßigkeit am Kapillitium oder im Gesicht und breitet sich über Stamm und Extremitäten aus, meist unter Aussparung von Händen und Füßen; Schleimhäute sind mitbefallen.

Da sich die Läsionen rasch entwickeln, kommt es innerhalb von 24 Stunden zur Bläschenbildung und durch schubweises Auftreten der Effloreszenzen zu verschiedenen Bläschenstadien im gleichen Hautgebiet. Durch das Nebeneinander von wasserklaren, oft leicht gedellten Bläschen mit rotem Randsaum, eingedrückten Bläschen, Pappeln und Krusten entsteht das bunte Bild der Heubnerschen Sternkarte.

Typisch ist die hohe Kontagiosität. Sie besteht bis zu 5 Tagen vor Auftreten der Bläschen und nicht länger als 6 Tage nachdem die letzten Bläschen entstanden sind (Tröpfchen- und Schmierinfektion) (18, 34, 102, 132).

Bei allen Herpesinfektionen sind immundefiziente Patienten auch durch eine VZV-Infektion besonders gefährdet. Bei einer Erkrankung kann es zu einer viszeralen Beteiligung kommen (46, 47, 145, 172).

Die klinische Diagnose der Windpocken ist selten schwierig. Differentialdiagnostisch kommt *Strophulus infantum* in Frage.

3.1.2.1.2 Virologie

Obwohl die Pathogenese der Varizellen nicht gut dokumentiert ist, wird vermutet, daß sich das Virus anfangs im Mukosazellen des oberen Respirationstrakts repliziert, in lokales lymphatisches Gewebe eindringt und sich dann über den Blutweg möglicherweise in zirkulierenden mononuklearen Makrophagen ausbreitet (5, 140, 161). Wie das HSV induziert das VZV in infizierten Zellen spezifische Enzyme wie Thymidinkinase zur Replikation viraler DNS (7, 25, 53, 102).

3.1.2.1.2.2 Latenz

Bei einer Primärinfektion kommt es als Folge der hämatogenen Ausbreitung zu einer Virusinvasion der Spinalganglien (78). Dort persistiert das VZV üblicherweise ohne Rezidiv bis zum mittleren Alter. Es wird vermutet, daß sich dann das Virus von dem beteiligten Ganglion und entlang der sensorischen Nervenbahnen zur Haut hin ausbreitet und als Zoster manifestiert (13, 56, 122). Diese Hypothese wird heute als gültig akzeptiert, obgleich wiederholte Versuche das Virus aus den Ganglien zu kultivieren fehlschlügen (196).

Jedoch während einer Zosterinfektion gelang es das Virus sowohl aus dem Ganglion trigeminale (43) und der Hinterwurzel eines Spinalganglions (27) mit Hilfe von Immunfluoreszenz und Elektronenmikroskopie nachzuweisen.

3.1.2.2 Zoster

Zoster kommt fast in jedem Lebensalter vor. In der Jugend ist er selten, im Alter häufiger, sein Gipfel liegt zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr.

Zoster scheint sich als Reinfektion mit VZV bei Teilimmunität oder als Folge einer Reaktivierung latent vorhandener VZV entwickeln zu können. Die Inkubationszeit beträgt 7-14 Tage. Der Mechanismus der Reaktivierung ist noch weitgehend unklar. Zu den Risikofaktoren zählen Alter, Trauma, Nervenverletzungen, Röntgenbestrahlungen, UV-Licht-Exposition, Immunsuppression und maligne Erkrankungen wie das Hodgkin-Lymphom (4, 89, 445, 162).

Empfängliche Personen, meist Kinder können von Zoster infiziert werden und entwickeln Varizellen. Sonst ist die Kontagiosität des Zosters sehr gering.

Die Diagnose ist gewöhnlich einfach: Morphologie des Exanthems, Verlauf und Lokalisation läßt auf Zoster schließen.

Nach einem etwaigen Prodromalstadium mit leichter Temperaturerhöhung (Zosterfieber ist selten), Abgeschlagenheit und oft schon heftigen Neuralgien bilden sich erythematöse, einem Nervensegment entsprechende Herde aus. Auf ihnen schießen gruppiert angeordnete, häufig konfluierende wasserklare Bläschen auf, deren Inhalt sich bald trübt. Die Bläschen trocknen nach ein paar Tagen ein und bedecken sich mit einer kleinen Kruste, die nach 1-2 Wochen abfällt. Der ganze Prozeß dauert etwa 2-3 Wochen (18, 102, 132).

Besonders charakteristisch für die Zoster-Eruption ist die segmentale Anordnung: Die Effloreszenzen sind in der Regel unilateral dem Versorgungsgebiet eines Nervensegmentes, seltener mehrerer Segmente zugeordnet. Alle Körperpartien können befallen sein. Die disseminierte Form des Zosters befällt auch Lunge und andere Organe.

3.2 Pockengruppe

Zur elektronenmikroskopischen Befundung kamen Molluscum contagiosum, Ecthyma contagiosum (Orf) und der Melkerknoten. Weil die Erkrankungen sowohl anamnestisch als auch in der Negativkontrastierung stets eindeutig zu bestimmen waren, folgt hier nur ein knapper Abriß.

Molluscum contagiosum ist eine harmlose, wenig kontagiöse, infektiöse Epitheliose, die durch ein Quadervirus, das epidermotrope Molluscum-Virus hervorgerufen wird.

Die Übertragung erfolgt solange Läsionen vorhanden sind, von Mensch zu Mensch (Schmierinfektion), seltener durch indirekten Kontakt über Gegenstände.

Nach einer Inkubationszeit von Wochen bis Monaten findet man reiskorn- bis linsengroße, derbe, gelbliche oder blaßrosa, wachsartig glänzende, halbkugelige Knötchen mit zentraler Eindellung. Meist multiples Auftreten, gelegentlich ist nur ein einziges Molluscum contagiosum vorhanden.

Bevorzugt befallen werden Kleinkinder und Jugendliche. Prädispositionsstellen sind Gesicht, Augenlider, Stamm und Genitoanalregion.

Ecthyma contagiosum (Orf) ist eine unter Schafen endemisch vorkommende Viruserkrankung, die durch Schmierinfektion hauptsächlich auf Schafzüchter und Tierärzte übertragen wird.

Wegen der Spontanheilung in ca. 35 Tagen wird häufig der Arzt nicht aufgesucht.

Nach einer Inkubationszeit von 3 - 11 Tagen (87) entsteht ein Knoten, selten mehrere (bis zu 10 Knoten), bevorzugt an der Streckseite der Finger oder am Handrücken. Die Knoten sind 1 - 2 cm groß, nassen, haben eine papillomatöse Oberfläche und werden von einer Kruste bedeckt.

Der Virusnachweis gelingt am schnellsten durch Negativkontrastierung, sonst kultureller Nachweis auf Amnionzellkulturen (99, 123, 124).

Der Melkerknoten tritt nach Kontakt mit Eutern infizierter Jungkühe, die eine Paravakzineerkrankung haben, auf. An den Händen der Melker treten nach einer Inkubationszeit von etwa 5 - 7 Tagen ein oder mehrere halbkugelige hervortretende, erbsengroße, gewöhnlich blaurötliche Knoten mit blauschwärzlicher Kuppe auf. Dadurch wird eine zentrale Delle vorgetäuscht. Die Oberfläche ist prall und spiegelnd, die Umgebung meist reaktionslos. Diagnostisch einfach wiederum ist die Negativkontrastierung (151), sonst eine histologische Untersuchung.

3.3 Hand-Fuß-Mundkrankheit

Die Erkrankung wird charakterisiert durch:

- bevorzugtes Auftreten bei Kindern unter 10 Jahren, selten bei Erwachsenen, vorwiegend in den Sommermonaten;
- die Inkubationszeit von 3 - 5 Tagen ist häufig von Halsschmerzen begleitet;
- Vorhandensein von Mundschleimhautveränderungen, zunächst in Form vesikulöser Erytheme, später in Gestalt aphtöser Ulzerationen, Fieber, unbeständige Hauterscheinungen, rote Flecke, auf denen sich kleine, ovale längliche Bläschen von weißgrauer Farbe mit eckiger Begrenzung ausbilden;
- das Exanthem sitzt vor allem an Handtellern und Fußsohlen, seltener auf Haut- und Fußrücken;
- kurze Krankheitsdauer von 10 - 14 Tagen, spontane Rückbildung;
- Diagnose aufgrund des klinischen Bildes, Virusnachweis aus Rachenspülwasser und Stuhl möglich, sowie Anstieg der neutralisierenden Antikörper im Serum.

4.0 DIAGNOSTISCHE METHODEN BEI HERPESINFEKTIONEN

Das folgende Kapitel beschränkt sich ausschließlich auf Herpesinfektionen, da bei der Pockengruppe, Hand-Fuß-Mundkrankheit und dem Erythema exsudativum multiforme keine elektronenmikroskopischen Falschergebnisse vorkamen.

Ein wachsender Bedarf an schneller und verlässlicher Labordiagnostik von Herpeserkrankungen wurde in verschiedenen Publikationen hervorgehoben (45, 127, 172).

Die Wichtigkeit dieser Forderung wird untermauert durch:

- die Notwendigkeit einer besseren Behandlung infizierter Patienten durch frühe, spezifische Erkennung der viralen Ätiologie einer Erkrankung,
- die schnelle Auswahl antiviraler Medikamente bei lebensbedrohlichen Infektionen, wie HSV- oder VZV-Enzephalitis,
- die Rolle des HSV bei perinatalen Infektionen,
- die frühe Entdeckung einer kontagiösen Virusinfektion kann durch nachfolgende Isolation des Patienten die Ausbreitung einer Krankheit begrenzen,
- die Erwartung einer effektiven antiviralen Chemotherapie gegen Herpesinfektionen in naher Zukunft.

Das Drängen nach einer schnellen Virusidentifikation wird ermöglicht durch den Fortschritt auf dem virologischen Sektor, die Entwicklung von potenteren und spezifischeren Antigenen, die Standardisierung von Reagentien und Testmethoden - und auf der technischen Seite, die Entwicklung neuer und besserer Instrumente.

Die ideale diagnostische Technik muß schnell, sensitiv, spezifisch, verläßlich und kostenbewußt sein.

Folgende kurze Übersicht berücksichtigt obige Gesichtspunkte unter dem klinischen Aspekt, da verschiedene spitzfindige zellvermittelte und humorale Prüfungen, die in den vergangenen Jahren entwickelt wurden, hauptsächlich auf Forschungsebene Anwendung finden.

Fundamental für den Erfolg jeder Labordiagnostik ist die richtige Auswahl von geeigneten klinischen Proben. Für die Virustestung sollten Flüssigkeit, Zellreste oder Zellen von den aktiven Läsionen verwendet werden.

Verschiedene Methoden zur Diagnostik bieten sich an (Tab. 1, Seite 31).

Tab. 1: Methoden zur Diagnostik von Herpesviren-Erkrankungen

	Dauer	Aufwand	Sensitivität	Spezivität	Differenzierung von Herpesviren
Tzanck-Test	10 min	gering	>80% ⁺	>90% ⁺	nein
Zellkultur mit Plaquemorphologie	3-4 d	mäßige	hoch	mit IPT hoch	mit ELISA: möglich
Serologie-KBR	Wo	gering	bei Rezidiven fraglich	gering	nein
-ELISA	3 h	gering	hoch	hoch	/
monoklonale Antikörper (DIP)	1 h	gering	vermutlich hoch		ja
Elektronenmikroskopie	1 Wo	hoch	gering	hoch	nein
-Dünnschnitte					
-Negativkontrastierung	1 h	gering	ca. 70% ⁺	ca. 99% ⁺	nein
Molekularbiologie (Restriktionsenzymanalyse, Hybridisierungstechnik)	3 d	hoch	hoch	hoch	ja

⁺ Oranje et al, 1986 (139)

" Beurteilung aufgrund der vorliegenden Untersuchung

4.1 Klinisches Bild

Trotz der Verfügbarkeit labortechnischer Hilfe fällt die diagnostische Beurteilung von Herpes durch die charakteristische Erscheinung und Verteilung der Hautläsionen (18, 126, 139). Der Routinier beurteilt die meisten Herpesinfektionen - Gingivostomatitis, Herpes labialis, Herpes genitalis, Varizellen, Zoster - mit nahezu 100 %iger Sicherheit klinisch (18, 95, 102, 110, 111). Jedoch die Effloreszenzen einer Herpangina, Vincent's Angina, orale Moniliasis, Stomatitis beim Stevens-Johnson-Syndrom oder Arzneimittelreaktionen, insbesondere bei immunsuppressiven Patienten können alle mit Stomatitis herpetica verquickt sein. Ebenso kann manch bakterielle oder mykotische Infektion schwierig von herpetischen Läsionen im Lippen- oder Hautbereich zu unterscheiden sein.

Zur Sicherung der klinischen Diagnose muß die Anamnese, die Morphologie der Hauteffloreszenzen, der Verlauf und die Lokalisation einer Herpeserkrankung berücksichtigt werden.

In Abschnitt 5.4 "Kriterien zur Sicherung der klinischen Diagnose" finden sich dazu nähere Ausführungen.

4.2 Direkte Untersuchung der klinischen Proben

Methoden für die direkte Identifikation von Herpesviren im Probenmaterial:

Methoden zur direkten Identifikation von HSV

- Lichtmikroskopie (Zytologie, Histopathologie)
- Elektronenmikroskopie (Negativkontrastierung, Histologie)
- Direkte Entdeckung von HSV-Antigenen
 - Immunfluoreszenz
 - Radioimmunassay
 - Enzymimmunoassay

4.2.1 Lichtmikroskopie (Zytologie, Histopathologie)

Am Beispiel des Tzanck-Tests:

Im Abstrich vom Grund eines frisch eröffneten Bläschens werden in der Giemsa-Färbung multinukleäre epidermale Riesenzellen gefunden, die auf eine Virusinfektion hindeuten (2, 59, 62, 77, 126, 139, 164, 165). Die Kernmembran dieser herpesinfizierten Zellen ist dick. Die Kernzentren sind entweder amorph (frühes Infektionsstadium) oder enthalten einen zentralen granulären eosinophilen Einschuß (spätes Infektionsstadium). Spärlich vorhandene vielkernige Zellen, aber eine Fülle von einzelnen, runden, kleinen Zellen mit wenig Zytoplasma und runden Kernen mit zentralen Einschlüssen, lassen Varizella-Zoster - statt Herpes simplex - Viren wahrscheinlich sein.

Diskussion:

Zytologische Untersuchungen, Papanicolaou, Tzanck und andere histochemische Färbungen, sind heute in den meisten Krankenhäusern durchführbar. Die Sensitivität der Tests korreliert deutlich mit der Anzahl von virusinfizierten Zellen aus aktiven Läsionen, ist aber dem kulturellen Virusnachweis unterlegen (182). Der Tzanck-Test erwies sich nach neueren Untersuchungen als relativ aussagekräftig (139, 164, 165). Eine Virusidentifikation ist nicht möglich, das Ergebnis ist also, im Sinne eines Screening-Verfahrens, nur von vorläufigem diagnostischem Wert.

4.2.2 Elektronenmikroskopie (EM), Negativkontrasttechnik

Herpesviren können mittels Negativkontrastierung durch Phosphorwolframsäure innerhalb kurzer Zeit elektronenoptisch dargestellt werden (Abschn. 2.1). Selbst im Liquor konnten Herpesviren nachgewiesen werden (172).

Eine Viruszuordnung findet nach Größe und virusspezifischer Oberflächenbeschaffenheit statt (Kapitel 2.2), eine morphologische Differenzierung ist allerdings nicht möglich.

Üblicherweise findet man die Viren von einer Kapsidhülle umgeben. Gelegentlich wurden mehrere Nukleokapside in einer gemeinsamen Hülle beobachtet. Nur selten sieht man ein "nacktes" Nukleokapsid, ein Virus ohne Hülle (Kapitel 2.2.1, Abb. b und d).

Diskussion:

Für die schnelle Diagnose (binnen einer Stunde) ist die Verfügbarkeit eines Elektronenmikroskops in der näheren Klinikumgebung unerlässlich.

Durch die Morphologie alleine ist eine Differenzierung zwischen HSV-I, HSV-II und VZV nicht möglich, so daß in dieser Hinsicht nur vorläufig diagnostiziert werden kann. Immun-Elektronenmikroskopie erlaubt eine spezifische Virusdiagnose, wurde klinisch aber noch nicht verwendet.

Die diagnostische Aussagekraft der Negativkontrastierung soll die vorliegende Arbeit aufzeigen.

4.2.3 Identifizierung von Herpesviren mit Hilfe von HSV-Antikörpern

Am Beispiel der Immunfluoreszenz:

Diese Methode unterscheidet zwischen HSV-I, -II und VZV trotz der Tatsache, daß es schwierig ist auf kommerzielle Art ein gutes Anti-Varizellen-Zoster-Reagens zu bekommen.

Für diesen Test wird der Abstrich auf einem Objektträger luftgetrocknet, 10 Minuten in kaltem Azeton fixiert, mit fluoreszeinmarkiertem Antiherpessserum überzogen und in einer Feuchtigkeitskammer inkubiert, um ein Trocknen zu verhindern. Anschließend wird das überschüssige Antiserum durch gründliches Spülen mit einer Phosphat-gepufferten Salzlösung (pH 7,2) beseitigt. Die spezifische Fluoreszenz der infizierten Zellen im Fluoreszenzmikroskop ist ungleichmäßig strahlend-grün. Die Präsenz einer typisch gefärbten "positiven" Zelle ist für eine positive Diagnose ausreichend.

(Um wiederholte Kontrollen zu vermeiden und zur Standardisierung des konjugierten Materials ist die indirekte Methode gebräuchlich).

Diskussion:

Auch für Radioimmunassay und Enzymimmunoassay sind Reagentien erhältlich. Sie gehören zu den empfindlichsten Verfahren zum Nachweis typenspezifischer Antikörper und deren Differenzierung in IgM und IgG (171).

Obwohl diese Methoden technisch einfach und schnell sind, ist bei der Durchführung ohne adäquate Kontrollen oder bei begrenzter Erfahrung Vorsicht geboten (125, 174).

Nichtspezifische Reaktionen sind ein Problem dieser Methoden die in einer falsch-positiven Interpretation der Testergebnisse enden (100).

4.3 Virusisolierung, Identifikation und Typisierung

4.3.1 Virusisolierung

Material wird aus relevanten Hautläsionen durch Abstriche gewonnen und in spezielle Transportmedien gebracht. Im Labor wird das Material auf verschiedene Zellkulturtypen geimpft, z.B. Kaninchen, Mäuse, Chorionallantoismembran. Inokulation von Kaninchenkornea (Grüter-Kornealversuch), Mäusehirn oder Brutei ist heute selten.

Für die virale Labordiagnostik dürften menschliche Embryofibroblasten oder Chorionallantoismembran die zweckmäßigsten Zellen für die Isolierung von HSV-I und -II sein. Nach dem Überimpfen bilden die Viren Infektionsherde. Diese sog. Plaques lassen aufgrund ihrer unterschiedlichen Morphologie eine Typendifferenzierung in HSV-Typ I und HSV-Typ II zu. HSV-I wächst in Form kleiner rundlicher Infiltrate, HSV-II in größeren opaken Plaques. Auch bei der Überimpfung von HSV auf Zellkulturen können die zytopathogenen Effekte der Viren durch die Zerstörung der infizierten Zellen zu unterschiedlichen Plaquebildungen führen. Form, Größe, Farbe und Konsistenz sind für manche Viren charakteristisch.

Im Gegensatz zum HSV wächst das VZV nicht in gewöhnlichen Zellkulturen. Es benötigt fetale diploide Menschen - (57, 63, 194) oder Affenierenzellen (20, 117). Ein Wachsen in Guinea-Schweinembryozellen ist ebenfalls möglich (67, 158).

Auch ist das HSV pathogen für mehrere Labortiere, beispielsweise das Kaninchen, das VZV hingegen für kein Tier (61).

Diskussion:

Zellkulturen sind für die Isolierung von Herpesviren wegen ihrer Zweckmäßigkeit und Sensitivität am gebräuchlichsten.

Die Virusisolierung ist langsam und besonders beim VZV schwierig. Die Plaquemorphologie kann bereits einen gewissen Hinweis auf den Virustyp geben (154).

Bis zum Auftreten eines zytopathischen Effekts dauert es beim HSV 24-48 Stunden, beim VZV 48-72 Stunden.

Diese Zeitspanne kann durch den Nachweis von virusinduzierten Veränderungen (Zielzellen) mittels Immunfluoreszenz verkürzt werden.

4.3.2 Virusidentifikation

Die Herpesviren können durch Kultur (Neutralisation, Hämagglutination) oder Immunfluoreszenz identifiziert werden. Als VZV-spezifischer Test hat sich die gegenläufige Immunelektrophorese bewährt.

Kultur:

Substanz aus dem Bläschengrund oder anderes infektiöses Material wird auf Zellkulturen (menschliche Amnionzellen oder Fibroblasten) geimpft. Das Virus hat einen zytopathischen Effekt auf diese Zellen. Dieser Effekt wird durch vorheriges Hinzufügen eines Herpesantikörperserums auf die Zellkulturen spezifisch gehemmt oder neutralisiert (107).

Diskussion:

Der Immunfluoreszenz-Test verläuft nach dem gleichen Prinzip wie im Abschnitt 4.2.3 (106, 153). Die direkte Methode ist zu bevorzugen, weil sie einfacher und schneller ist, und eine weniger spezifische Färbung benötigt.

Zur Unterscheidung zwischen HSV-I und -II dienen die Hämagglutinations- und Neutralisationsreaktionen. Hauptnachteil des Ersteren: keine kommerziellen Reagentien sind erhältlich. Die Neutralisation ist sehr komplex und zeitaufwendig, sie hat ihren Sinn bei seroepidemiologischen Studien.

Mit der gegenläufigen Immunelektrophorese gelingt die Bestätigung einer VZV-Infektion innerhalb zwei Stunden. Wie in jeder immunologischen Technik ist die Sensitivität und Spezifität des Antikörpers von größter Wichtigkeit.

4.3.3 Virologische Typisierung

Eine Anzahl immunologischer Methoden zur Differenzierung der Herpesviren wurde entwickelt:

Immunologische Methoden zur Virustypisierung

- Neutralisation (169)
- Hämagglutination (9)
- Immunfluoreszenz (176)
- Enzymimmunassay
- Radioimmunoassay (52, 90)

Diskussion:

Für klinische Zwecke sind solche spezifischen Virustypisierungen selten indiziert. Es ist z.B. von geringer klinischer Bedeutung, ob ein HSV aus dem Genitalbereich einer schwangeren Frau vom Typ -I oder -II ist, da beide eine ernste Erkrankung des Neugeborenen hervorrufen können.

Zur Zeit ist die Herpestypisierung am wertvollsten für epidemiologische Zwecke. Jedoch könnte sie für eine effektive antivirale Chemotherapie von Nutzen sein.

4.4 Serologie

Standardmethoden sind: Präzipitations-, Agglutinations-, Komplementbindungs- und Hämagglutinationshemmungsreaktion, die Neutralisation, Immunofluoreszenz und der Radioimmunoassay (202). Die einfachsten Reaktionen führen zur Aggregats- oder Komplexbildung mit der Präzipitation oder Agglutination. Sie erfassen das Auftreten von Antikörpern im Blutserum und deren Titterschwankungen.

Bei einer primären HSV-Infektion entwickelt sich stets sowohl eine humorale als auch eine zelluläre Immunität. Nach etwa 7 Tagen bilden sich neutralisierende Antikörper und innerhalb von 4-6 Wochen steigen die komplementbindenden Antikörpertiter. Danach

fällt er und erreicht stabile Werte, die zwischen 1:8 und 1:64 liegen. Sie müssen sich während darauffolgender Rezidive nicht verändern, mit Ausnahme bei immundefizienten Patienten. IgM-Antikörper gegen HSV in einem einzelnen Serum zeigt normalerweise eine akute HSV-Infektion, obgleich nicht notwendigerweise eine primäre.

Bei einer primären VZV-Infektion treten nach 4-5 Tagen im Serum VZV-Antikörper auf. Für die Dauer von ca. 2 Wochen kommt es zu einem Anstieg der Antikörpertiter. Nach mehreren Monaten fallen die Komplementbindungstiter wieder und können beim Erwachsenen oftmals nicht mehr gemessen werden, während die neutralisierenden Antikörper über viele Jahre persistieren.

Beim Zoster sind die Komplementbindungstiter im früheren Infektionsstadium sehr hoch. IgM-Antikörper sind meist mit dem Radioimmunoassay nachweisbar.

Diskussion:

Serologische Tests, im allgemeinen die Komplementbindungsreaktion, sind von begrenztem Wert für die Virusdiagnostik. Sie sind nützlich bei der Bestätigung einer Primärinfektion, da mit ihnen eine Veränderung des Titors beim Vergleich von Seren akut erkrankter und rekonvaleszenter Personen nachgewiesen werden kann. Bei Rezidiven sind diese Tests jedoch wertlos. Die Diagnose einer laufenden Infektion hängt vom Nachweis eines signifikanten Antikörperanstiegs ab (171).

Radioimmunoassay kann spezifische HSV-Antikörper in der IgM-Fraktion des Serums prüfen. Jedoch haben Patienten mit häufigen Herpesperioden auch spezifische IgM-Antikörper in ihrem Serum zwischen den einzelnen Rezidiven.

Die Immunantwort von rekurrenten Infektionen oder Reinfektionen ist kompliziert. Heterologe wie homologe Antikörperantworten sind oft zu sehen. Solche Unregelmäßigkeiten machen die Interpretation serologischer Ergebnisse sehr schwierig (171).

4.5 Interpretation der diagnostischen Verfahren

Seit langem praktizierte und bekannte Labortests sind der zytologische, elektronenmikroskopische und kulturelle Nachweis von Herpesviren. Sie finden (da schnell, Kostengünstig und einfach) üblicherweise Anwendung, lassen jedoch keine Differenzierung von Viren der Herpesgruppe zu.

Serologische Tests sind in den meisten klinischen Situationen weniger aussagekräftig. Sie hängen bei einer Herpesinfektion von der Demonstration eines signifikanten Anstiegs der spezifischen Antikörpertiter oder von der Entdeckung von Herpes-IgM im Patientenserum ab.

Ein Antikörpertiteranstieg ist generell nach einer primären Herpesinfektion zu beobachten, aber ein Titeranstieg ist auch bei Rezidiven evident. Serologische Ergebnisse können in solchen Fälle irreführen.

Neuere diagnostische Verfahren umfassen immunologische und molekularbiologische Methoden (171).

In der Immunologie gelingt mit Hilfe monoklonaler Antikörper, die gegen genau definierte Glykoproteine gerichtet sind, neben der raschen HSV-Diagnose auch eine Differenzierung der HSV-Typen.

Verschiedene Immunassays wie Neutralisationstest, Immunfluoreszenztest, indirekter Hämagglutinationshemmtest oder die Elisa-technik werden hier eingesetzt.

In ihrer Spezifität und Sensitivität sind sie molekularbiologischen Techniken vergleichbar.

Die Restriktionszymanalyse auf dem Gebiet der Molekularbiologie vermittelt durch Auftrennung des Virusgenoms Einblick in die Epidemiologie einer Herpesinfektion und deren Rezidivmechanismus.

Die Hybridisierungstechnik wird vorwiegend zur Untersuchung der Karzinogenese des HSV sowie des Latenzmechanismus eingesetzt (19).

Die erwähnten diagnostischen Verfahren sollten nicht miteinander konkurrieren. Jedes hat seinen Stellenwert. Die Wahl richtet sich nach den Möglichkeiten der jeweiligen Klinik. Um die beste und schnellste Diagnose zu treffen, könnte sich die eine oder andere Technik sinnvoll ergänzen.

5.0 UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODIK

5.1 Patientengut

Im Zeitraum Januar 1977 bis März 1985 wurden 412 Patienten mit Verdacht (oder zum Ausschluß) von Hautviren mittels Negativkontrastierung elektronenmikroskopisch untersucht.

Anhand der vorliegenden Akten wurde das Patientengut hinsichtlich Anamnese, Befund, Laborergebnisse und weiterem Krankheitsverlauf analysiert.

Speziell bei den Herpesviruserkrankungen wurden nach entsprechenden Kriterien (siehe Abschn. 5.4) diese Fälle als klinisch hochwahrscheinlich an einer Herpesinfektion erkrankt, als nichtwahrscheinlich infiziert oder als unklar klassifiziert.

Die klinischen Diagnosen konnten somit retrospektiv gesichert werden.

5.2 Elektronenmikroskopische Beurteilung

Ort der elektronenmikroskopischen Negativkontrastierung war die Dermatologische Klinik in München, in deren Ambulanzen sich die untersuchten Personen vorstellten. Die Auswertung der Präparate erfolgte im Philips Elektronenmikroskop, EM 300, bei einer Strahlenspannung von 60 kV.

Die Negativkontrasttechnik wurde im Abschnitt 2.1 erläutert.

Die Durchmusterung der Proben geschah bei einer Vergrößerung von 20.000, virusverdächtige Strukturen erfuhren bei ca. 50.000 facher Vergrößerung eine endgültige Beurteilung. Als positiv galten Präparate mit mehreren typischen Virusstrukturen. Fotos dazu in Abschnitt 2.2, Seite 8 und 10.

5.3 Gliederung der einzelnen Viruskrankheiten der Haut

5.3.1 Herpesvirusgruppe

Für die Untersuchung wurde zwischen einer Ersterkrankung und einem Rezidiv unterschieden und den einzelnen Herpesvirenerkrankungen zugeordnet.

5.3.1.1 Herpetische Primärmanifestationen

Zu den Herpetischen Primärmanifestationen zählen:

Varizellen, Zoster, Herpes simplex: Herpes facialis, Herpes labialis, Eczema herpeticatum, Gingivostomatitis herpetica, Herpes genitalis, Vulvovaginitis herpetica und auch Herpesinfektionen durch Übertragung auf Finger, Handrücken, Rücken und Fuß.

5.3.1.2 Herpetische Sekundärmanifestationen

Zu den Herpetischen Sekundärmanifestationen zählen:

Herpes simplex recidivans (in loco): Herpes labialis recidivans, Herpes facialis recidivans, Eczema herpeticatum, Chronischer Herpes simplex, Herpes glutealis recidivans, Herpes genitalis recidivans; auch hier sind Inokulationen auf andere Körperteile möglich.

5.3.2 Pockengruppe

Sie umfaßt das Molluscum contagiosum, das Ecthyma contagiosum (Orf) und den Melkerknoten.

5.3.3 Hand-Fuß-Mundkrankheit

5.4 Kriterien zur Sicherung der klinischen Diagnose bei Herpeserkrankungen

Um bei der Einordnung der klinischen Diagnosen aus den Aktenvermerken sicherzugehen, wurden folgende Kriterien zugrunde gelegt.

5.4.1 Anamnese

Feststellung der vergangenen Zeit bis zur erstmaligen Vorstellung des Patienten. Erschien beispielsweise der Patient 3 - 6 Wochen nach Auftreten erster Beschwerden, bzw. Effloreszenzen, so konnte immer auch aus dem folgenden Krankheits- bzw. Therapieverlauf eine Herpesvirusinfektion ausgeschlossen werden.

5.4.1.1 Eigenanamnese

Für Herpesvirusinfektionen typische Merkmale:

- Entwicklung der Beschwerden
- wann begonnen
- eventuell wodurch ausgelöst
- bisher behandelt.

Jetzige Beschwerden: z.B. Juckreiz, Brennen, Schmerzen.

5.4.2 Spezieller Befund

Beurteilt wird zum einen das morphologische Bild der Hauteffloreszenzen nach Größe, Form, Farbe und Konsistenz, zum anderen die betroffene Lokalisation.

5.4.3 Verlauf

5.4.3.1 Zeitlicher Verlauf

Die Dauer des zeitlichen Verlaufs einer Herpes simplex - Erkrankung war für die Diagnose eine verlässliche Hilfe.

So war bei Herpes simplex - Primärinfektionen eine Abheilung innerhalb 2-3 Wochen stets eine verbindliche Aussage, obwohl Primärinfekte durchaus einen Verlauf bis zu 6 Wochen nehmen können (z.B. Herpes genitalis).

Rezidive zeigen generell einen milderen und kürzeren Verlauf, waren aber bei einigen Herpes genitalis - Rezidivinfekten in ihrer Quote unterschiedlich häufig, bis zu einem oder mehr Rezidiven pro Monat (10, 38, 50, 86, 95, 141).

5.4.3.2 Nachfolgende klinische Erscheinungen

Nachfolgende klinische Erscheinungen sind in ihrer Morphologie und zeitlichen Präsenz zu unterscheiden in Haut- und Schleimhautbefall.

Bei normalem Verlauf kommt es bei ersterem schon innerhalb eines Tages zu vereinzelt Erythemen, bzw. Bläschenbildung, die im Laufe der ersten 4 Tage ihr Maximum erreicht. Schon ab dem ersten Tag ist an den Randbezirken der nässenden Stellen teilweise mit Krustenbildung zu rechnen, die etwa am 4. Tag maximal ist. Die anschließende Heilung verläuft über einen Zeitraum von 8 - 10 Tagen.

Bei Typ II-Erkrankungen läuft die Blasenbildung parallel mit den Prodromalsymptomen. Die Vesikel platzen rasch, spätestens nach 4 Tagen, und hinterlassen vor allem bei Frauen zum Teil großflächige Erosionen. Nach 7 - 8 Tagen leitet eine beginnende Verkrustung die Heilungsphase ein.

Rezidive sind charakterisiert durch deutlich geringere Effloreszenzen, kürzere Prodrome und kürzerem zeitlichen Verlauf der Erkrankung (10, 31, 50, 86).

5.4.4 Sicherer Nachweis einer anderen Diagnose

Serologische und histologische Laborbefunde haben Differentialdiagnosen sicher fundiert. Beispielsweise verschiedene Ekzeme (atopische, nummuläre, toxische und periorale), Dermatididen, Pyodermien, Allergien, Hautreaktionen nach Insektenstichen, Syphilis, Candidiasis, Trichomoniasis, Scabies und pyogene Infektionen.

5.4.5 Komplementbindungsreaktion (KBR) - Serologie

Die KBR-Serologie wurde bei einigen Patienten zur Diagnose herangezogen. Als sicheres Kriterium für eine Herpesinfektion hat sie jedoch nur beschränkten Wert.

Dieser serologische Test ist nützlich bei der Bestätigung einer Primärinfektion, da mit ihm eine Veränderung des Tests beim Vergleich von Seren akut Erkrankter und rekonvaleszenter Patienten nachgewiesen werden kann. Der Herpes-KBR bewegt sich während der Latenzzeit im mittleren Bereich zwischen 1:16 und 1:64.

Bei Rezidiven sind diese Tests wertlos (10, 39, 171, 202).

Erscheint der Patient nicht mit einer Herpesprimärinfektion, so ist er antikörper-positiv, bei einer initialen Entzündung ist der Herpes-KBR negativ. Meist läßt schon die schwere Symptomatik einer Herpeserkrankung eine Erstinfektion vermuten.

5.5 Definitionen

Zur Beurteilung der diagnostischen Aussagekraft der Negativkontrastierungsmethode kamen folgende Definitionen (8) zur Anwendung:

$$\text{Aussagekraft gesamt} = \frac{\text{richtig Positive} + \text{richtig Negative}}{\text{alle Fälle}} \times 100$$

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{richtig Positive}}{\text{richtig Positive} + \text{falsch Negative}} \times 100$$

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{richtig Negative}}{\text{richtig Negative} + \text{falsch Negative}} \times 100$$

6.0 ERGEBNISSE

6.1 Gesamter elektronenoptischer Virusnachweis

Abbildung 2 (Seite 50) zeigt das gesamte mit Hilfe der Negativkontrastierung untersuchte Patientengut.

6.2 Prozentuelle Verteilung der einzelnen Krankheiten aus dem Patientengut

Gesamtes mittels Negativkontrastierung untersuchtes Patientengut $n = 412$ (100 %).

377 der 412 untersuchten Probeentnahmen (91,5 %) waren herpesverdächtig, 14 (3,4 %) waren der Pockengruppe zuzuordnen, bei 13 (3,2 %) vermutete man ein postherpetsches Erythema exsudativum multiforme und bei 8 (1,9 %) lag eine Hand-Fuß-Mundkrankheit vor (Tab. 2, Seite 51).

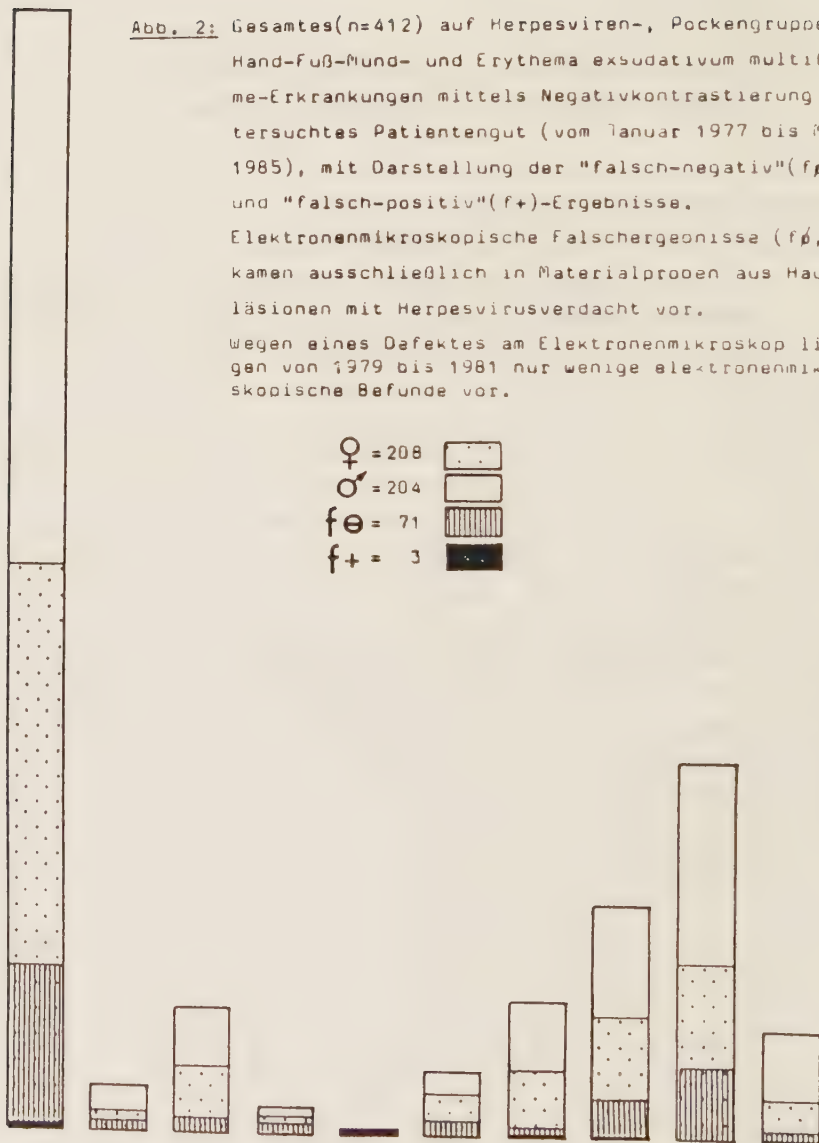
Die weiteren Ergebnisse beschränken sich auf die Herpeserkrankungen, da bei der Pockengruppe, dem Erythema exsudativum multiforme und der Hand-Fuß-Mundkrankheit keine elektronenmikroskopischen Falschergebnisse vorkamen.

Abb. 2: Gesamtes (n=412) auf Herpesviren-, Pockengruppen-, Hand-Fuß-Mund- und Erythema exsudativum multiforme-Erkrankungen mittels Negativkontrastierung untersuchtes Patientengut (vom Januar 1977 bis März 1985), mit Darstellung der "falsch-negativ" (fp) und "falsch-positiv" (f+)-Ergebnisse.

Elektronenmikroskopische Falschergebnisse (fp, f+) kamen ausschließlich in Materialproben aus Hautläsionen mit Herpesvirusverdacht vor.

Wegen eines Defektes am Elektronenmikroskop liegen von 1979 bis 1981 nur wenige elektronenmikroskopische Befunde vor.

♀ = 208
♂ = 204
fe = 71
f+ = 3



Jahr	1977-3.85	77	78	79	80	81	82	83	84	3.85
n:	412	17	46	10	2	24	50	85	138	40
fp:	71	4	6	4	1	6	4	15	27	4
f+:	3						1	1		1

Tab. 2: Negativkontrastierungsverfahren bei Patienten mit Verdacht auf eine Viruserkrankung der Haut (n=412) an der Dermatologischen Klinik der Universität München (1977 bis Anfang 1985).

GESAMTES PATIENTENGUT	412
A. HERPESVIRUSGRUPPE	377
Varizellen	34
Zoster	44
Herpes simplex (nach Anamnese Primärmanifestation)	167
(davon Herpes genitalis: 37)	
Herpes simplex recidivans	60
(davon Herpes genitalis/glutealis: 14/4)	
Chronischer Herpes simplex	1
Gingivostomatitis herpetica	18
Eczema herpeticum	51
Vulvovaginitis herpetica	2
B. POSTHERPETISCHES ERYTHEMA EXSUDATIVUM MULTIFORME	13
C. POCKENGRUPPE	14
Molluscum contagiosum	4
Melkernknoten	4
Ecthyma contagiosum (Orf)	6
D. HAND-FUSS-MUNDKRANKHEIT	8

6.3 Geschlechts- und Altersverteilung der auf Herpesverdacht untersuchten Patienten

Abb. 3 zeigt diese Darstellung und die hochwahrscheinlich (aufgrund der unter Abschnitt 5.4 aufgeführten Kriterien) an Herpes erkrankten Personen $n = 216$.

Abb. 3: Aufschlüsselung aller untersuchten Patienten mit Herpesinfektionen nach Altersgruppen und Geschlecht.

 Geschlechtsverteilung: $n=377$ (100%)

$\text{♀} = 196$ (52%)

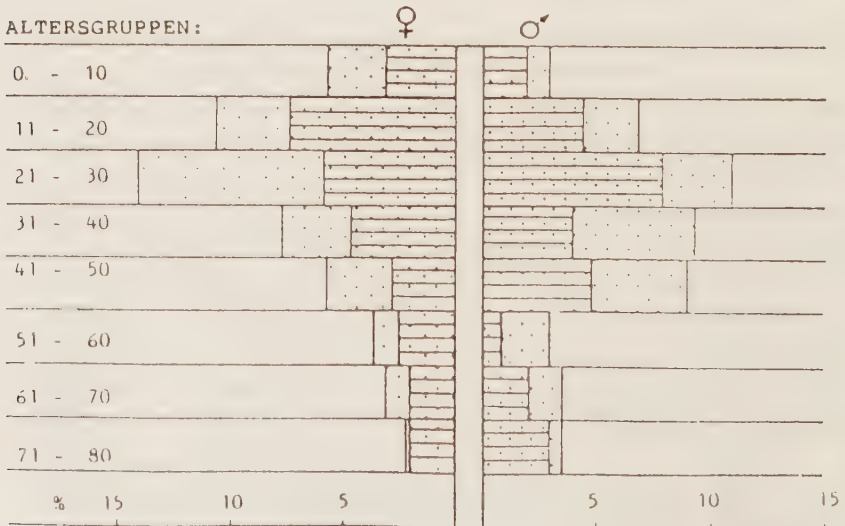
$\text{♂} = 181$ (48%)

 klinisch hochwahrscheinlich an herpes erkrankte Patienten: $n=216$ (100%)

$\text{♀} = 111$ (51,4%)

$\text{♂} = 105$ (48,6%)

ALTERSGRUPPEN:



Die meisten Herpeserkrankungen wurden beim weiblichen Geschlecht zwischen dem 11. und 20., bei männlichen zwischen dem 21. und 30. Lebensjahr beobachtet (Abb. 3, ).

Diese Altersgefüge kommt durch die einzelnen herpetischen Krankheitszustände, besonders dominant sind in den beiden erwähnten Altersgruppen Herpes facialis und labialis und Herpes genitalis mit ihren Rezidiven (Abb. 4, 5).

Abb. 4: Altersverteilung der weiblichen und männlichen Patienten bei:
a) Herpes simplex recidivans (Herpes facialis, labialis und andere Lokalisationen) und b) Herpes genitalis recidivans.

♀ =

♂ = —

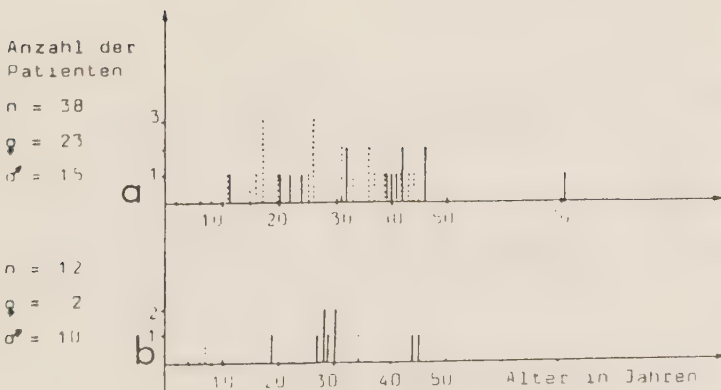
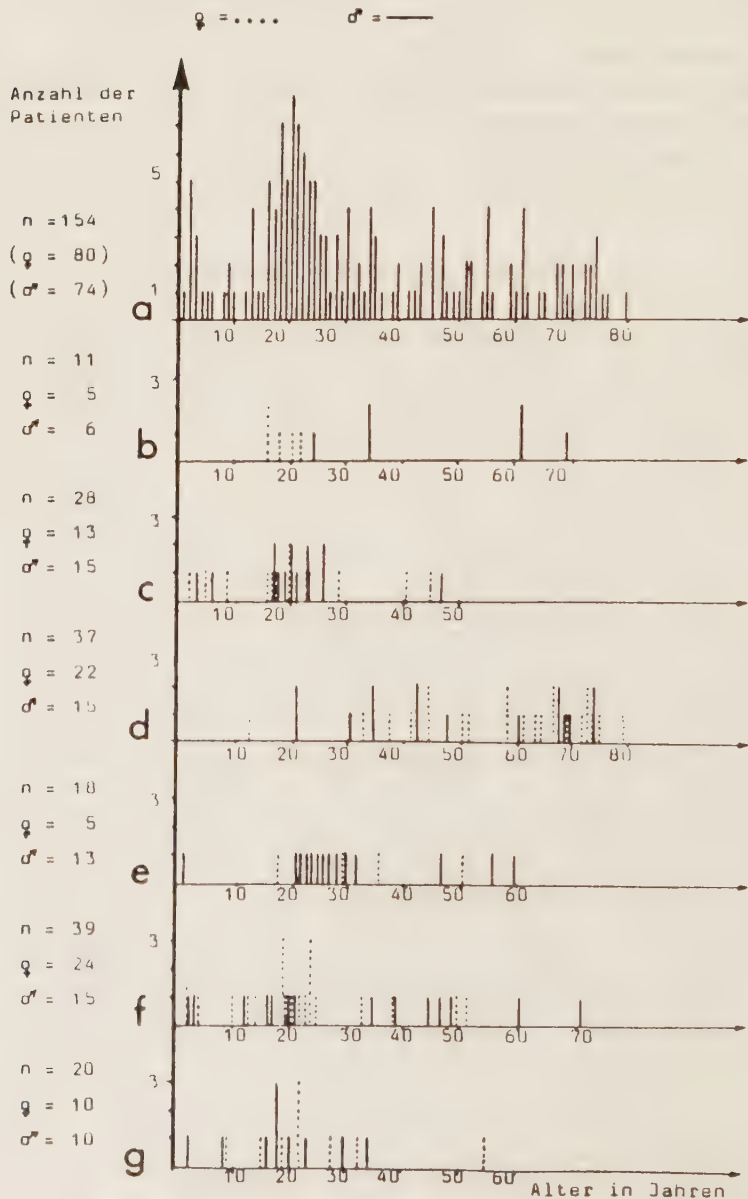


Abb. 5: Altersverteilung der weiblichen und männlichen Patienten bei:
a) herpetischen Primärmanifestationen, b) Gingivostomatitis
herpetica, c) Eczema herpeticum, d) Zoster, e) Herpes geni-
talis, f) Herpes simplex (Herpes facialis, labialis und ande-
re Lokalisationen), g) Varizellen. (Es fehlt: Vulvovaginitis
herpatica mit einer Patientin).



Herpes labialis und facialis, Eczema herpeticatum und Varizellen finden sich vorwiegend zwischen dem 10. und 25. Lebensjahr.

Herpes genitalis, Herpes genitalis recidivans und Herpes labialis und facialis recidivans streuen zwischen dem 15. und 45. Lebensjahr.

Die an Zoster Erkrankten liegen hauptsächlich in den höheren Altersgruppen ab dem 6. Lebensjahrzent.

Diese Altersverteilung entspricht den klinischen Erfahrungen (Abb. 4, 5).

Mit Ausnahme des Zoster sieht man die übrigen Herpesformen im Alter seltener (z.B. Herpes facialis, labialis, genitalis), bzw. überhaupt nicht (Eczema herpeticatum oder Herpes genitalis recidivans) (Abb. 4, 5).

6.3.1 Primär- und Sekundärmanifestationen der klinisch hochwahrscheinlich an Herpes Erkrankten

Eine prozentuelle Aufschlüsselung siehe Abb. 6, Seite 56.

Von den 216 hochwahrscheinlich mit Herpes infizierten Personen stellten sich Erstinfekte ($n = 154$) 2,5 mal so oft wie Rezidive ($n = 62$) vor.

Am häufigsten kamen Herpes-Primärmanifestationen bei beiden Geschlechtern im Alter vom 11. bis 30. Lebensjahr vor.

Bei den Herpes-Sekundärmanifestationen waren die Frauen zwischen dem 31. und 40., die Männer zwischen dem 21. und 30. Lebensjahr am stärksten betroffen.

Wie aus der Grafik (Abb.7, Seite 57) zu erkennen, variiert die Rezidivrate in den einzelnen Altersgruppen sehr. Sie ist vom 20. bis zum 50. Jahr besonders hoch.

Abb. 6: Häufigkeit der verschiedenen Herpeskrankheiten, gegliedert in herpetische Primär- und Sekundärmanifestationen nach Alter und Geschlecht. Gesamtzahl der hochwahrscheinlich an Herpes Erkrankten: n=216 (100%)

 herpetische Primärmanifestationen: n=154 (71,3%)
 ♀=80 (37%)
 ♂=74 (34,3%)

 herpetische Sekundärmanifestationen:
 n=62 (28,7%)
 ♀=31 (14,4%)
 ♂=31 (14,4%)

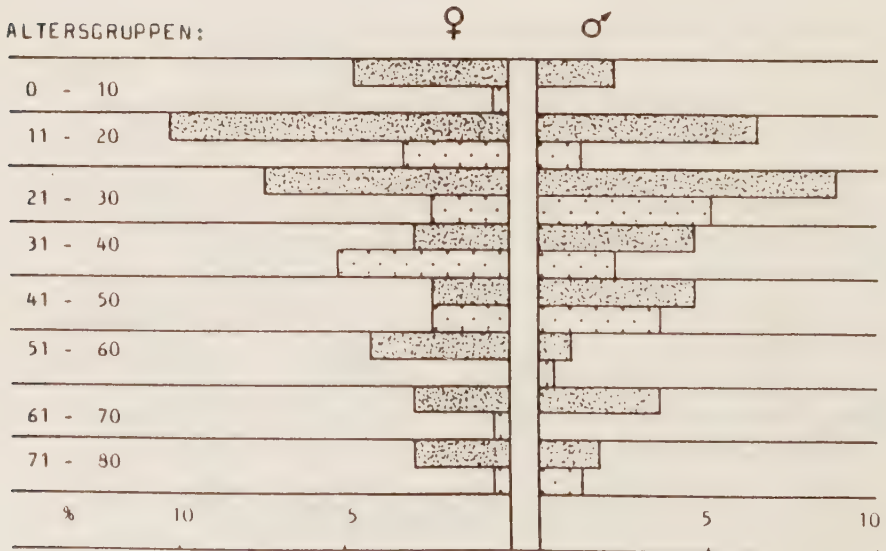
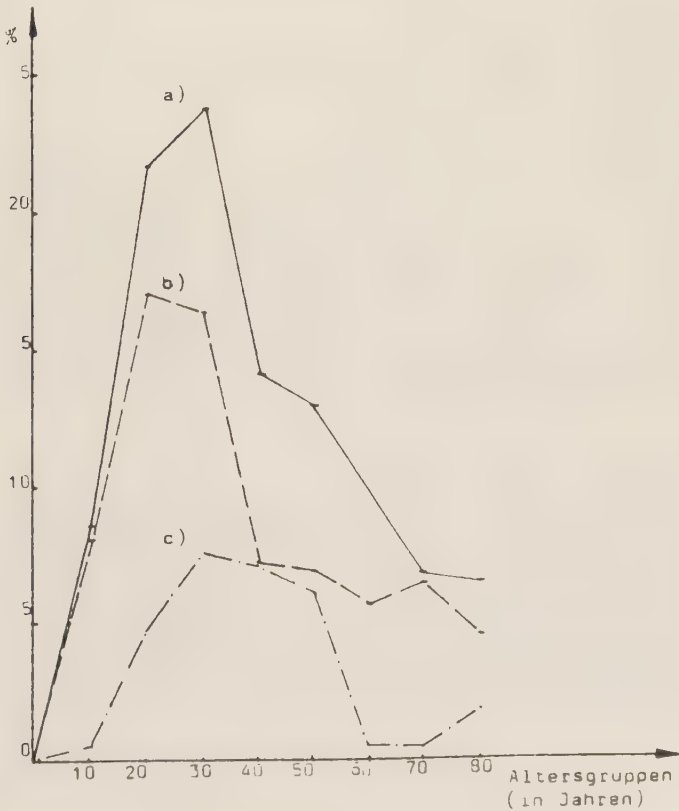


Abb. 7: Prozentueller Anteil Herpeskranker in den einzelnen Altersgruppen in bezug auf die a) hochwahrscheinlich mit Herpesviren infizierten Patienten $n=216$ (100%). Gegliedert in b) Erstinfekte $n=154$ (71,3%) und c) Rezidive $n=62$ (28,7%).



6.3.1.1 Betrachtung der verschiedenen Herpeskrankheiten

Die prozentuelle Häufigkeit der einzelnen Herpesformen mit Geschlechtsverteilung siehe Abb. 8.

Abb. 8: Prozentuelle Häufigkeit der einzelnen Herpesformen mit Geschlechtsverteilung bezogen auf die mit Herpesviren infizierten Patienten $n=216$ (100%). Grundlage ist Tabelle 3.

$n=216$ (100%)

♀ = 111 (51,4%)

♂ = 105 (48,6%)

HERPESFORMEN

Herpetische Primärmanifestationen:

	♀	♂
Varizellen		
Zoster		
Herpes simplex ⁺		
Herpes genitalis		
Eczema herpeticum		
Gingivostomatitis herpetica		
Vulvovaginitis herpetica		

Herpetische Sekundärmanifestationen:

Herpes simplex recidivans ⁺		
Herpes genitalis recidivans		
Herpes glutealis recidivans		
Eczema herpeticum		
Chronischer Herpes simplex		
%	15 10 5	5 10

⁺ Lokalisationen: Gesicht, Lippen, finger, Handrücken, Rücken, Fuß.

Tab. 3: Häufigkeit der einzelnen Herpesformen und Geschlechtsverteilung bei den mit Herpesviren infizierten Patienten n=216 (100%).

♀ = 111 (51,4%)

♂ = 105 (48,6%)

herpetische Primärmanifestationen (h. Pm.):

n=154 (♀ = 80, ♂ = 74)

herpetische Sekundärmanifestationen (h. Sm.):

n=62 (♀ = 31, ♂ = 31)

HERPESFORMEN

<u>h. Pm.:</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	<u>♀</u>	<u>♂</u>
<u>Varizellen</u>	20	9,3	10	10
<u>Zoster</u>	37	17,1	22	15
<u>Herpes simplex:</u>				
<u>facialis</u>	19	8,9	12	7
<u>labialis</u>	11	5,1	7	4
<u>andere Lokalisationen</u> ⁺	9	4,2	5	4
<u>Herpes genitalis</u>	18	8,3	5	13
<u>Eczema herpeticum</u>	28	13,0	13	15
<u>Gingivostomatitis herpetica</u>	11	5,1	5	6
<u>Vulvovaginitis herpetica</u>	1	0,5	1	
<u>h. Sm.:</u>				
<u>Herpes simplex recidivans:</u>				
<u>facialis</u>	14	6,5	8	6
<u>labialis</u>	13	6,0	9	4
<u>andere Lokalisationen</u> ⁺	11	5,1	6	5
<u>Herpes genitalis recidivans</u>	12	5,7	2	10
<u>Herpes glutealis recidivans</u>	4	1,9	1	3
<u>Chronischer Herpes simplex</u>	1	0,5	1	
<u>Eczema herpeticum</u>	7	3,2	4	3

⁺ zum Beispiel: Finger, Handrücken, Rücken, Fuß.

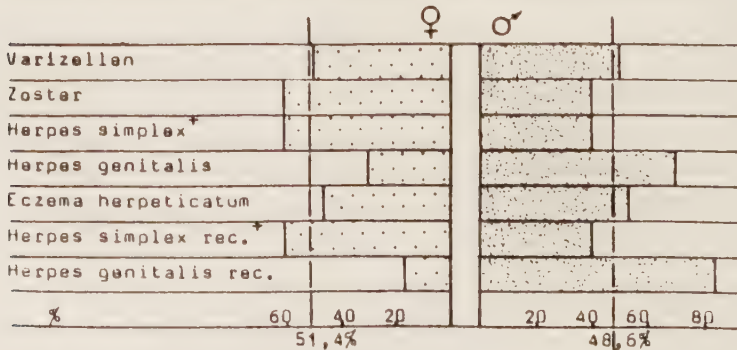
Die häufigsten Herpes-Primärmanifestationen bei Frauen und Männern waren Herpes facialis und labialis, Zoster und Eczema herpeticatum mit $n = 105$ (48,6 % der Patienten).

Die meisten Herpes-Sekundärmanifestationen fielen bei den Frauen auf Herpes facialis und labialis recidivans mit $n = 23$ (10,7 %), bei den Männern auf Herpes facialis und labialis recidivans und Herpes genitalis recidivans mit $n = 25$ (11,6 %) Erkrankten.

Abb. 9 zeigt im Vergleich zur durchschnittlichen Gesamthäufigkeit (51,4 %, $n = 111$ bei Frauen und 48,6 %, $n = 105$ bei Männern) der einzelnen Herpesformen ein mehr an Herpes facialis und labialis-, Zoster- und Herpes facialis und labialis recidivans- Erkrankungen beim weiblichen Geschlecht, Herpes genitalis und Herpes genitalis recidivans sind bei Männern prominent (als Grundlage siehe Tabelle 3).

Abb. 9: Prozentuelle Verteilung der häufigsten Herpeserkrankungen im Vergleich zur durchschnittlichen Gesamthäufigkeit bei Frauen ($n=111$, 51,4%) und Männern ($n=105$, 48,6%). Als Grundlage dient Tabelle 3.

Geschlechtsverteilung der häufigsten Herpeserkrankungen:



* Lokalisationen: Gesicht, Lippen, Finger, Handrücken, Rücken, Fuß.

6.4 Unklare Fälle

Unklarheiten bei der Durchsicht der Patientenblätter ergaben sich bei 17 Fällen (4,5 % der 377 Herpesverdächtigen) 10 Frauen und 7 Männer (Tabelle 4).

Sie entstanden aufgrund unklarer Aktenvermerke bezüglich klinischer Diagnose und Verlaufsprotokoll der Herpeserkrankungen.

Tab. 4: Unklare Fälle nach Aktenstudium, resultierend aus unvollständiger Dokumentation und unklarer Diagnose n=17:
Dies entspricht 4,5% aller mit Herpesverdacht untersuchten Patienten n=377.

Unklare Fälle	n	♀	♂
Unvollständig dokumentiert	9	3	6
Unklare Diagnose	8	7	1
Summe	17	10	7

6.5 Fehlerbetrachtung bei der Negativkontrastierung

Ausschließlich bei den Herpeskrankheiten kam es zu Differenzen zwischen dem klinischen Bild und den elektronenmikroskopischen Ergebnissen der Negativkontrastierung.

Die Negativkontrasttechnik kann bei Viren der Pockengruppe, bei der Hand-Fuß-Mundkrankheit und der Suche nach Herpesviren bei dem Verdacht eines postherpetischen Erythema exsudativum multiforme als relativ sicher gelten.

Die Auswertungen befassen sich daher im wesentlichen mit der Herpesvirusgruppe.

6.5.1 Häufigkeit der "falsch-negativ" - und "falsch-positiv" - Ergebnisse bei der Negativkontrastierung

Eine Übersicht des gesamten ($n = 412$) auf Herpes-, Pockengruppen-, Hand-Fuß-Mund- und Erythema exsudativum multiforme-Erkrankungen mittels Negativkontrastierung Patientenguts zeigt Abb. 2 (Seite 50).

6.5.1.1 Prozentuelle Verteilung der "falsch-negativ"-Ergebnisse

Nach Aktenstudium kamen 377 Patienten mit Herpesverdacht zur Negativkontrastierung. Die elektronenoptische Beurteilung war in 149 Fällen Virus positiv, in 228 negativ (Tabelle 5, Seite 63).

Klinisch hochwahrscheinlich an Herpes erkrankt (aufgrund der in Abschn. 5.4. aufgeführten Kriterien) waren 216 Personen.

Die Negativkontrastierung bestätigte diese Zahl in 145 Fällen, 71 mal konnten keine Herpesviren nachgewiesen werden, diese wurden als "falsch-negativ" bezeichnet.

Klinisch hochwahrscheinlich keinen Herpes (Kriterien dazu in Abschn. 5.4) hatten 144 Personen.

Die Negativkontrastierung deckte sich mit diesen Diagnosen bei 141 Untersuchungen, 3 Entnahmen zeigten im Elektronenmikroskop trotzdem Viren; diese 3 wurden als "falsch-positiv" geführt.

17 Personen waren nach Aktenlage unklar hinsichtlich Diagnose bzw. Aufzeichnungen über den Krankheitsverlauf.

16 Präparate davon waren herpesnegativ und eines positiv.

Tab. 5: Nach Aktenlage kamen 377 herpesverdächtige Entnahmeproben zur Negativkontrastierung. Das Resultat gliedert sich wie folgt auf:

klinischer Verdacht auf Herpesviren	n	Negativkontrastierung	
		positiv	negativ
hochwahrscheinlich ⁺			
ja	216	145	71
hochwahrscheinlich ⁺			
nein	144	3	141
unklare Fälle"	17	1	16
Summe	377	149	228

⁺ klinische Beurteilung aufgrund der in Abschnitt 5.4 angeführten Kriterien

"siehe Abschnitt 6.4

Eine prozentuelle Verteilung der Falsch-Ergebnisse aller mit Herpesverdacht untersuchten Personen ($n = 377$) zeigt Abb. 10 (Seite 65).

Von den 216 klinisch hochwahrscheinlich an Herpes Erkrankten konnten elektronenoptisch bei 71 Präparaten keine Herpesviren gefunden werden.

Die Fehlerquote liegt hier bei 32,9 %.

Auch jene Patienten ($n = 144$), die zwar mit Herpesverdacht zur Negativkontrastierung kamen, später jedoch klinisch nachweisbar hochwahrscheinlich nicht mit Herpesviren infiziert waren, wurden den Verdachtsdiagnosen entsprechend in die einzelnen Herpesrubriken aufgeteilt (Abb. 10, Seite 65).

In dieser Gruppe der klinisch nicht mit Herpesviren Infizierten erwiesen sich dennoch 3 Patienten als viruspositiv, ein Fehler von 2,1 %.

Die durchschnittliche Fehlerquote von 32,9 % wurde bei den Erstinfekten von Herpes facialis, labialis und genitalis übertroffen; bei den Rezidiven von Herpes facialis recidivans, labialis recidivans, und genitalis recidivans.

Dabei zeigten die Fälle mit Läsionen an der Mund- oder Genitalschleimhaut ($n = 41$) eine deutlich höhere Quote von "falsch-negativ"-Ergebnissen (46,3 %), als die Fälle mit Lokalisation an der übrigen Haut (29,7 %, $n = 175$).

Vulvovaginitis herpetica und Chronischer Herpes simplex sollten wegen der geringen Patientenzahl von nur einer bzw. zwei Personen aus der Einzelwertung genommen werden (in Abb. 10 gerastert).

Die Herpes-Primärmanifestationen zeigen im Durchschnitt einen Fehler von 31,2 % (48 von 154 Fällen), die Sekundärmanifestationen von 37,1 % (23 von 62 Fällen).

Abb. 10: Prozentuelle Verteilung der "falsch-negativen" Präparate bei den Negativkontrastierungen (Nk) bezüglich aller mit Herpesviren infizierten Personen n=216 (100%).

Untersuchte herpesverdächtige Personen: n=377

A. Davon klinisch hochwahrscheinlich viruspositiv: n=216

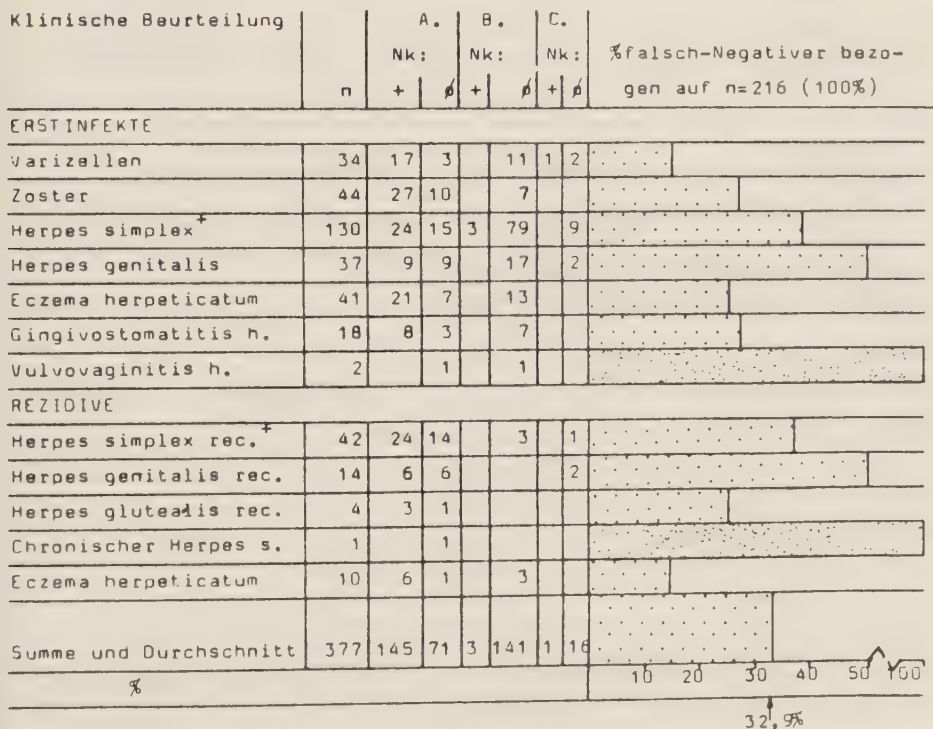
(Negativkontrastierung positiv (+): 145, negativ (p): 71)

B. Davon klinisch hochwahrscheinlich virusnegativ: n=144

(Negativkontrastierung positiv (+): 3, negativ (p): 141)

C. Davon unklare Fälle (siehe Abschnitt 6.4): n=17

(Negativkontrastierung positiv (+): 1, negativ (p): 16)



⁺Lokalisationen: Gesicht, Lippen, Finger, Handrücken, Rücken, Fuß.

Die gerasterten Herpeserkrankungen sollten wegen der geringen Patientenzahl in der Einzeldarstellung besser nicht berücksichtigt werden.

6.5.1.2 "falsch-negativ"-Betrachtung

Bei den 71 "falsch-negativ"-Resultaten gehen mit Sicherheit 23 zu Lasten nichtrelevanter Läsionen (wie keine Bläschen, fettiges oder blutiges Präparat).

Das sind rund 1/3 aller "falsch-negativ"-Ergebnisse (32,4 %) (Tabelle 6).

Tab. 6: Betrachtung der "falsch-negativen"-Ergebnisse bei nichtrelevanten Läsionen (wie kein Bläschen, fettige und blutige Präparate): n=23 der "falsch-negativ"-Resultate (n=71).

Herpesmanifestationen	kein Bläschen, kein Sekret	Präparate fettig blutig		Gesamt
Erstinfekte	12	2	2	16
Rezidive	6	1		7
Summe	18	3	2	23

Nur Entnahme aus aktiven Läsionen, also Sekret aus frischen Bläschen sichert einen positiven Virusnachweis.

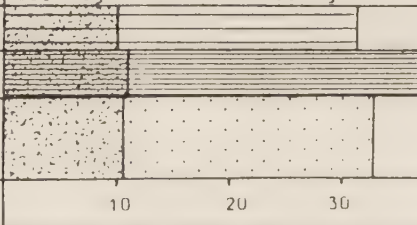
Durch Salben anbehandelte Effloreszenzen lassen lediglich einen fettigen Abstrich zu, die Re-suspendierung mit Aqua dest. für die Negativkontrastierung ist sehr unwahrscheinlich. Ebenso können fetthaltige Fingerabdrücke auf dem Glasobjektträger einen Virusnachweis erschweren.

Blutige Präparate bewirken erstens eine zu hohe Verdünnung der Virusproben und zweitens behindern die korpuskulären Blutbestandteile (wie Erythrozyten, Thrombozyten u.a.) die elektronenoptische Virussuche; ein viruspositives Ergebnis ist nahezu unmöglich.

Die Untersuchung des "falsch-negativ"-Patientenguts in Bezug auf Ersterkrankungen und Rezidive ist Abb. 11 zu entnehmen.

Abb. 11: Prozentuelle Verteilung der "falsch-negativen"-Präparate ($f\phi$) bei herpetischen Primärmanifestationen ($n=154$) und Sekundärmanifestationen ($n=62$), im Vergleich zur durchschnittlichen Fehlerhäufigkeit des viruspositiven Patientenguts ($n=216$).

 Nahezu ein Drittel (nämlich 32,4%) der "falsch-negativ"-Beurteilungen ($n=71$) resultieren aus nichtrelevanten Läsionen ($L^+=23$), wie keine Bläschen, fettiges oder hämorrhagisches Präparat (aus Tabelle 6).

HERPESFÄLLE	n	Anzahl		L ⁺		Prozentuelle Fehlerquote bei der Negativkontrastierung
		$f\phi$	%	n	%	
Primärinfekte	154	48	31,2	16	10,4	
Rezidive	62	23	37,1	7	11,3	
Summe und Durchschnitt	216	71	32,9	23	10,7	
%						10 20 30

Die Fehlerquote ist bei herpetischen Sekundärmanifestationen ($n = 23$, 37,1 %) gegenüber den Primärmanifestationen ($n = 48$, 31,2 %) um 6 % erhöht. Die Wahrscheinlichkeit eines Mißerfolges bei der Negativkontrastierung ist also bei Rezidiven vermutlich höher anzusetzen.

Der Entnahmefehler (nichtrelevante Läsionen) erreicht beide Male rund 1/3 der jeweiligen "falsch-negativ"-Rate.

Der durchschnittliche Virusnachweis mittels Negativkontrastierung bei Herpesinfektionen beträgt somit 67,1 %, bei Ersterkrankungen 68,8 %, bei Rezidiven 62,9 %.

6.5.1.3 "falsch-positiv"-Betrachtung

Bei 3 Personen (2,1 %) von 144 klinisch hochwahrscheinlich herpesfreien Patienten war die elektronenmikroskopische Diagnose "falsch-positiv". Die Negativkontrastierung wies also Herpesviren nach, obwohl klinisch keine Herpesinfektion ersichtlich war.

Andere Krankheiten wurden diagnostiziert.

Dies wurde festgestellt zum einen durch histologische Befunde (kleinknotiges Syphilid) zum anderen durch die klinische Beurteilung einer Acne comedonia und einer atopischen Dermatitis.

Bei allen "falsch-positiven" Fällen könnte eine Herpesinfektion mitbeteiligt gewesen sein, die jedoch durch sekundäre Überlagerung einer anderen Erkrankung klinisch in den Hintergrund trat (141).

6.6. Übersicht der wichtigsten Ergebnisse

6.6.1. Durch Negativkontrastierung untersuchtes und nach Verdachtsdiagnosen geordnetes Patientengut: n = 412 (100 %)

	<u>n</u>	<u>%</u>
Herpesgruppe	377	91,5
Pockengruppe	14	3,4
Erythema exsudativum multiforme	13	3,2
Hand-Fuß-Mundkrankheit	8	1,9

6.6.2 Häufigkeit und Verteilung der Herpes-Erkrankungen

Klinisch hochwahrscheinlich (aufgrund der Kriterien in Abschn. 5.4) mit Herpes infiziert waren n = 216 (57,3 %) Personen; n = 111 (29,4 %) weibliche, n = 105 (27,9 %) männliche.

Die meisten Herpeserkrankungen lagen bei den Frauen zwischen dem 11. und 20., bei den Männern zwischen dem 21. und 30. Lebensjahr.

6.6.3 Herpetische Primär- und Sekundärmanifestationen

Ein Drittel (n = 62) der klinisch sicheren Herpespatienten (n = 216) hatten Rezidive. Erstinfekte (n = 154) kamen 2,5 mal so oft wie Rezidive (n = 62) vor.

Häufigste Primärmanifestation bei Frauen und Männern:

Herpes facialis et labialis, Zoster, Eczema herpeticatum: 103 (47,7 %)

Häufigste Sekundärmanifestation bei Frauen:

Herpes facialis et labialis recidivans: 23 (10,7 %)

Häufigste Sekundärmanifestation bei Männern:

Herpes facialis et labialis recidivans und Herpes genitalis recidivans: 25 (11,6 %)

Die durchschnittliche Gesamthäufigkeit bei den Herpesviren-Erkrankungen beträgt bei Frauen 51,4 %, bei Männern 48,6 %. Im Vergleich dazu zeigt sich ein Mehr an Herpes facialis et labialis-, Zoster- und Herpes facialis et labialis recidivans-Erkrankungen beim weiblichen, Herpes genitalis und Herpes genitalis recidivans beim männlichen Geschlecht (Abb. 9, Seite 60).

6.6.4 Mittels Negativkontrastierung untersuchtes Herpes-Patientengut

Von den 377 herpesverdächtigen Entnahmeproben waren 149 elektronenoptisch viruspositiv und 228 negativ. Klinisch hochwahrscheinlich an Herpes erkrankt waren 216 Personen. Die Negativkontrastierung deckte sich in 145 Untersuchungen, 71 mal konnten keine Herpesviren nachgewiesen werden. Klinisch hochwahrscheinlich keinen Herpes hatten 144 Patienten. Hier stimmte die Negativkontrastierung bei 141 Proben überein, 3 Entnahmen zeigten trotzdem Herpesviren.

Siebzehn Personen waren nach Aktenlage hinsichtlich Diagnose bzw. Krankheitsverlauf unklar. 16 Präparate davon waren in der Negativkontrastierung virusnegativ, eines positiv.

6.6.5 Fehlerquote bei der Negativkontrastierung

Es sei nochmals darauf hingewiesen:

Weder in der Pockengruppe, der Hand-Fuß-Mundkrankheit, noch bei den auf Erythema exsudativum multiforme Untersuchten gab es Unstimmigkeiten zwischen den klinischen und den elektronenmikroskopischen (Negativkontrastierung) Ergebnissen.

6.6.5.1 Fehlerbetrachtung beim Herpes-Patientengut

Trotz eines charakteristischen klinischen Befundes (Kriterien dazu in Abschn. 5.4) wurden bei 71 von 216 Präparaten elektronenoptisch keine Herpesviren gefunden. Dabei zeigten die Fälle mit Schleimhautläsionen einen deutlich höheren Fehleranteil von 46,3 % (19 von 41 Patienten), als die Proben der übrigen Hauteffloreszenzen (29,7 %, 52 von 175 Patienten).

Patienten mit Ersterkrankungen wiesen in 48 von 154 Fällen (31,2 %) "falsch-negativ"-Ergebnisse auf, Patienten mit Rezidiv-erkrankungen in 23 von 62 Fällen (37,1 %).

Ein Teil der "falsch-negativ"-Resultate $n = 23$ (32,4 % der 71 "falsch-Negativen") waren durch die Entnahme aus nichtrelevanten Läsionen verursacht: Klinisch kein Vorliegen von Bläschen ($n = 18$), fetthaltige Präparate durch vorherige Salbenbehandlung bzw. fettige Fingerabdrücke auf dem Objektträger ($n = 3$) und hämorrhagische Proben ($n = 2$).

- 72 -

"Falsch-positiv"- Ergebnisse kamen bei drei von 144 klinisch hochwahrscheinlich nicht mit Herpesviren infizierten Personen vor. Eine Herpesvirenerkrankung sollte hier trotzdem nicht endgültig ausgeschlossen werden.

Bei 13 Fällen von posttherpetischem Erythema exsudativum multiforme, als Kontrollen untersucht, fanden sich keine Viren.

6.6.6 Diagnostische Beurteilung der Negativkontrastierung bei Herpesvirenerkrankungen

Die vorliegende Analyse ergibt eine diagnostische Aussagekraft der Negativkontrasttechnik bei Herpesvirenerkrankungen von 79,4 %.

Kennzeichnend ist eine hohe Spezifität bei Herpesverdächtigen von 97,9 % im Vergleich zu einer relativ unvollständigen Erfassung (Sensitivität 67,1 %) der tatsächlich mit Herpesviren Infizierten.

7.0 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die vorliegende Untersuchung hatte die Auswertung der innerhalb von 8 Jahren durchgeführten Negativkontrastierungen von Haut-virosen zum Ziel.

Im Folgenden sind die wesentlichen Aspekte aufgeführt.

Die Läsionen der Pockengruppe-Erkrankungen lassen eine relativ sichere elektronenoptische Diagnose zu (203). Auch bei der Hand-Fuß-Mundkrankheit gingen die klinischen Befunde und die Negativkontrastierung konform. Bei den zur Kontrolle untersuchten postherpetischen Erythema exsudativum multiforme-Erkrankungen fanden sich keine Viren.

Wie sicher ist also der Virusnachweis bei den Herpesvirenerkrankungen mit Hilfe der Negativkontrastierung?

7.1 Fehlermöglichkeiten bei der elektronenmikroskopischen Herpesvirendiagnostik

7.1.1 Materialentnahme

Essentiell für den Erfolg jeder Labordiagnostik ist die richtige Auswahl von geeigneten klinischen Proben. Für die Virustestung mittels Negativkontrastierung sollte Bläschenflüssigkeit aus aktiven Läsionen bevorzugt werden (202).

Die Entnahme aus nichtrelevanten Läsionen, wie eingetrocknete, fettige und hämorrhagische Bläschen, erschwert den Virusnachweis sehr und macht ihn in der Regel unmöglich (50, 95, 149, 188).

Hier liegt ein wesentlicher Schlüssel zur Interpretation der Fehlerquote bei der Negativkontrastierung.

Ein Drittel ($n = 23$, 32,4 %) des festgestellten "falsch-negativ"- Patientenguts ($n = 71$) ist mit Sicherheit auf diese Probleme bei der Materialentnahme zurückzuführen.

Auch wenn Herpes antiviral anbehandelt wurde ist der Virusnachweis erschwert (177).

Rezidivkrankungen spielen bei der Fehlerbetrachtung eine wichtige Rolle. Mit 62,9 % lag hier die Erfolgsquote um 6 % unter der bei Ersterkrankungen (68,1 %).

In einer Studie (10) über 57 rekurrente fazial-orale HSV-Infektionen ließen sich nur in 61 % der Fälle Viren isolieren, obwohl innerhalb von 24 Stunden nach Ausbruch der Symptome Viruskulturen angelegt wurden (Tabelle 7).

Tab. 7: Isolation von Herpes simplex Virus (HSV) Typ I aus Patientenläsionen mit HSV-Rezidiven (10).

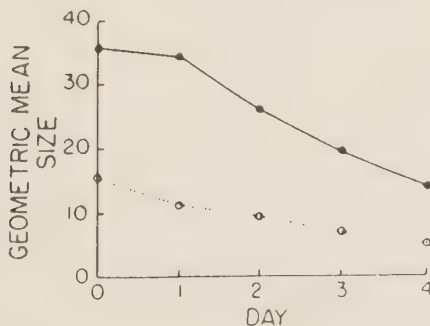
Tag	Anzahl der untersuchten Personen	Anzahl (%) der Personen mit HSV	Anzahl (%) der Personen ohne HSV
0	57	31 (54)	26 (46)
1	57	23 (40)	34 (60)
2	56	10 (18)	46 (82)
3	44	2 (5)	42 (95)
4	45	1 (2)	44 (98)

Tabelle 7 (10) zeigt eindrucksvoll wie stark der Mißerfolg eines Virusnachweises jenseits der ersten 24 Stunden ansteigt.

Insbesondere Rezidive mit ihren typischen kleinen, gruppiert angeordneten Bläschen, die sehr schnell platzen, verlaufen oft extrem mild und haben eine verkürzte Phase der Virusausscheidung (10, 38, 167, 188).

Eine Korrelation zwischen Läsionengröße und Virusnachweis ist bei Rezidiven evident: In obig erwähneter Studie (10) übertraf die geometrische Durchschnittsgröße der Läsionen in der viruspositiven Gruppe die virusnegative Gruppe um den Faktor zwei oder mehr, während des gesamten Krankheitsverlaufes. Sie nahm mit dem zeitlichen Verlauf ab (Abb. 12).

Abb. 12: Die geometrische Durchschnittsgröße von fazial-oralen Läsionen durch Herpes simplex-Viren, dargestellt als Funktion der Krankheitstage. Die aufgezeichneten Läsionengrößen waren normal verteilt und deshalb konnte eine Durchschnittsläsionengröße berechnet werden. Die Läsionengröße wurde durch Multiplikation von Länge und Breite der fazialen Läsion in viruspositiven (—●—) und virusnegativen (....○....) Fällen bestimmt(10).



In den kleinen und schnell abheilenden virusnegativen Läsionen fehlte in dieser Studie der HSV-Nachweis bei 39 %. Keine anderen Viren konnten nachgewiesen werden; der klinische Verlauf entsprach in den virusnegativen Gruppen einer HSV-Infektion (10). Eine stark verkürzte oder quantitativ geringere Virusausscheidung bei einem Teil der Rezidive könnte die Ursache der hohen Fehlerquote sein.

In einer weiteren Studie bei mehr als 1.000 jungen Erwachsenen (20 % hatten Rezidive) konnten in 12 % der Läsionen keine HSV isoliert werden (206).

Ferner lag bei täglich untersuchten Patienten (mittels Abstrichen) mit rezidivierendem Herpes labialis der negative Virusnachweis bei 24 %. Jedoch konnte in einem Drittel dieser Fälle durch Biopsien Herpesviren nachgewiesen werden, außerdem einmal im Speichel (141).

Die Stadien der Reaktivierung, Rekurrenz und Rekrudeszenz eines Rezidives werden durch die Quantität, Virulenz und Typ des im Ganglion angesiedelten Virus, durch die temporäre immunologische Situation und die Reaktivität des Organismus bestimmt (54, 146, 156).

Prägt die Quantität, Virulenz und der Typ des persistierenden Virus auch die Phase der Virusausscheidung und die Effloreszenzen?

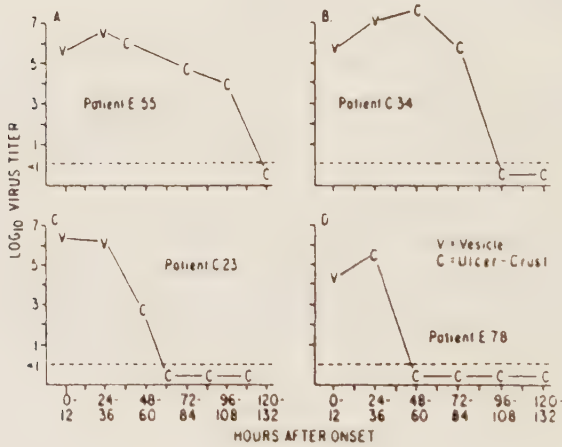
Diese Frage und die Form der Reaktivierung einer latenten Infektion korrelieren unmittelbar mit einem positiven Virusnachweis. Vielleicht entsteht durch eine Reaktivierung in nur einem kleinen Teil der persistent infizierten Neurone mit Virusstämmen hoher Virulenz ein Herpes. Der elektronenmikroskopische Virusnachweis käme dann der sprichwörtlichen Suche nach einer Stecknadel im Heuhaufen gleich.

Jedenfalls könnte so das breite Zeitintervall der Virusausscheidung einer Patientenstudie mit rekurrenten Herpes labialis interpretiert werden (141).

Abb. 13 zeigt die Virustiter bei 4 Patienten: einer scheidet Viren über einen Zeitraum von 5 Tagen aus, einer über 4 Tage, einer 3 Tage und einer 2 Tage (141).

Diese individuell so unterschiedliche Bandbreite der Virusausscheidung bei Herpesrezidiven macht deutlich, wie sorgfältig hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs bestehender Effloreszenzen, aber auch der anamnestischen Befragung bezüglich Ersterkrankung und Rezidiv für die richtige Auswahl von klinischen Proben zu verfahren ist.

Abb. 13: Virusausscheidung in einer Patientenstudie mit rekurrentem Herpes labialis (141): ein Patient scheidet Viren über einen Zeitraum von 5 Tagen aus, einer über 4 Tage, einer über 3 Tage und einer über 2 Tage.



Ernsthaftere Herpesrezidive sind in ihrer Entwicklung wie folgt charakterisiert:

- Nachweis von Herpesviren
- schnelle Entwicklung von Effloreszenzen und nachfolgenden Vesikeln
- größere Läsionen
- längere Dauer der Läsionen
- langsames Fortschreiten zur Krusten- und Abheilphase

Diesen Erkenntnissen entspricht folgende Interpretation der Fehlerquote von Herpes-Ersterkrankungen (Abb. 10).

In dieser Gruppe hatten Herpes genitalis und Zoster-Patienten (im Vergleich zu den an Varizellen Erkrankten) eine höhere Fehlerquote.

Beim Herpes genitalis liegt ein Virusbefall der Schleimhaut vor. Die Bläschen entwickeln sich hier schneller und platzen eher als bei Hautbefall (64, 149). Sie hinterlassen Erosionen und Ulzerationen, die weniger Sekret aufweisen und weniger ergiebig sind (141, 164, 202), obwohl der Erregernachweis auch unter Krusten und bei Ulzerationen im Randbereich möglich ist. Jedoch sind hier Entnahmefehler wahrscheinlicher, da die Virusausscheidung vermindert ist.

Eine weitere Ursache für den hohen Nachweisfehler beim Herpes genitalis wird durch die Tatsache erklärt, daß eine vorausgegangene HSV-Typ I-Infektion eine milder verlaufende HSV-Typ II-Erkrankung bewirkt (86, 141, 161).

Beim Zoster handelt es sich eigentlich um eine Rezidivkrankung des Varizella-Zoster-Virus, nämlich den Varizellen. Die Zeit der Virusausscheidung ist verkürzt. Dies bestätigt eine Dissertation aus dem Jahre 1976, wo über den zeitlichen Virusnachweis bei Zoster berichtet wird. Mit fortschreitendem Verlauf der Erkrankung war der Virusanteil im Bläschensekret spärlicher (202). Eine Erklärung für die höhere Fehlerrate bei Zostererkrankungen (27 %) gegenüber Varizellen (15 %).

7.1.2 Mikroskopische Beurteilung

Das elektronenmikroskopische Bild der einzelnen Viren benötigt erfahrene Mitarbeiter mit guten Kenntnissen der Virusmorphologie bei der Negativkontrastierung. Eine steigende Erfahrung macht die Diagnostik über die Jahre sicherer. Eine sorgfältige Anwendung der Technik schließt Verarbeitungsfehler aus.

7.1.3 Befundübermittlung und Interpretation

Eine oder mehrere Verdachtsdiagnosen erleichtern dem Untersuchenden die gezielte Suche nach Viren. Die Lokalisation des entnommenen Sekrets sollte stets angegeben werden, ebenso etwaige Entnahmeprobleme, anamnestische Befunde, wie Rezidive und wie lange die Effloreszenzen schon stehen. Vielleicht steigern entsprechende Angaben die Motivation bei der zeitintensiven Suche nach vereinzelt Viren.

Andererseits sollten nicht eindeutig nachzuweisende Virusstrukturen, auch ohne die charakteristischen Hüllen, erwähnt werden. Es könnte sich bei diesen wohl seltenen Fällen um Vorstufen von Herpesviren, sog. Elementarkörper oder aber um Zerfallerscheinungen handeln (133, 172). Virusartige Artefakte müssen ausgeschlossen werden.

Die Viren im Liquor z.B. zeigen nackte Nukleokapside mit teilweisen Rückständen der Virushülle (172).

Dem Mediziner öffnet sich dadurch eine weitere Variante diagnostischer Beurteilung hinsichtlich der Ätiologie einer Erkrankung. So verdecken Sekundärinfektionen wie z.B. Pilzbefall bei Herpes genitalis die Krankheitsursache.

7.1.4 Semantische Fehler

Die größte Problematik der Herpeserkrankungen liegt in der Kurzlebigkeit der Läsionen, dem variablen Verlauf der Erkrankung bei verschiedenen Personen und sogar beim gleichen Patienten. Zusätzlich können unbehandelte Läsionen das Laborergebnis verfälschen.

Auch kann die klinische Gesamterscheinung einer Herpesmanifestation selbst den erfahrenen Arzt zur falschen Diagnose verleiten, da eventuell zugrunde liegende Ursachen verborgen bleiben. Die Negativkontrastierung kann so schnell neue Erkrankungen zur Diskussion stellen - z.B. kompliziert ein Eczema herpeticatum den Krankheitsverlauf der atopischen Dermatitis.

Bei einem überraschenden, vermeintlich "falsch-positiven" Herpesnachweis sollte deshalb stets an die Möglichkeit einer überlagernden Sekundärinfektion gedacht werden.

So lassen sich die "falsch-positiv-Resultate" bei der Negativkontrastierung erklären. Viren, einmal im Präparat nachgewiesen, kann man schlecht negieren.

Inwieweit eine asymptomatische Virusausscheidung (vor allem bei Herpes genitalis) in Betracht kommt, ist noch unklar (1, 24, 39, 69, 86, 144, 198, 200).

7.2. Anamnesefehler bezüglich herpetischen Primär- und Sekundärmanifestationen

Die hohe Durchseuchung von HSV-Typ I-Infektionen bereits im Kindesalter und der oftmals klinisch inapparente Krankheitsverlauf läßt auf Anamnesefehler schließen. Auch ist die Möglichkeit einer Rezidivkrankung stets gegeben (16). Sind die Symptome jedoch schwerer, ist meist eine Primärinfektion zu vermuten (161).

Nicht immer stellt sich ein Patient, der an einer Herpesinfektion leidet mit einer Ersterkrankung vor. Die Täuschung liegt in der unterschiedlichen Rezidivrate der Herpeserkrankungen einerseits und der sehr wechselhaften und unvorhersehbaren klinischen Manifestation andererseits.

Bekommt beispielsweise eine Person im Kindesalter einen Primäreffekt, so kann dies über die Jahre der Latenz hinweg in Vergessenheit geraten. Eine später vermeintliche Ersterkrankung stellt dann bereits ein Rezidiv mit wesentlich verkürzter Virusausscheidung dar.

Selbst Erwachsene können durchaus Reinfekte unterschiedlicher Stärke bekommen ohne es zu registrieren. So beschreibt Rook (149) den Fall des Herpes genitalis recidivans bei Frauen und erwähnt, wie unbemerkt die oft kleinen Läsionen abheilen.

Bei einer vergleichenden Studie zwischen Personen mit initialen und rekurrenten genitalen HSV-Infektionen wurden signifikante Unterschiede im klinischen Verlauf ersichtlich:

Durchschnittsanzahl der Läsionen, Durchschnittsdauer der Schmerzen, durchschnittliche Virusausscheidung aus Läsionen und die durchschnittliche Läsionendauer von ihrem Erscheinen bis zur Abheilung waren deutlich kürzer als bei initialen Episoden. Neue Vesikel erschienen bei Rezidiven um die Hälfte weniger als bei Primärinfekten. - Obwohl die Dauer der genitalen Läsionen bei Rezidiven über einen Zeitraum von 11 Tagen zu verfolgen waren, betrug die durchschnittliche Virusausscheidung lediglich 3,9 Tage (30).

Zur Beurteilung herpetischer Primär- oder Sekundärmanifestationen sollte stets die Untersuchung Weitgassers beachtet werden, wo der höchste Gipfel der Ersterkrankung an Herpes simplex im 21. und 22. Lebensjahr liegt; danach sinkt die Kurve steil ab (192). Die eigene Grafik bestätigt ein deutliches Maximum um das 20. Lebensjahr (Abb. 7).

Das Überwiegen von weiblichen Herpes-Patienten (51,4 %) gegenüber männlichen Erkrankten (48,6 %) bedeutet nicht zwangsläufig, daß Herpes bei Frauen tatsächlich häufiger vorkommt, sondern nur, daß die dermatologischen Ambulanzen öfter von weiblichen Herpeskranken konsultiert wurden. Im Prinzip würde jedoch diese Tatsache mit Nasemanns Erkenntnissen übereinstimmen (133).

8.0 ZUSAMMENFASSUNG DER DISKUSSION UND ERGEBNISSE

In der vorliegenden Untersuchung wird eine über 8 Jahre dauernde Virusdiagnostik von Hautvirosen mittels Negativkontrastierung ausgewertet. Das Verfahren eignet sich gut für den Klinikalltag, weil es einfach, rasch und relativ sicher ist. Diese Vorzüge unterstreichen seinen Stellenwert, obgleich für ein schnelles Ergebnis ein Elektronenmikroskop in näherer Umgebung verfügbar sein muß.

Für die Pockengruppe-, Hand-Fuß-Mund- und die Erythema exsudativum multiforme-Erkrankungen kann diese Technik als relativ sicher gelten (203), keine elektronenoptischen Falschergebnisse kamen vor.

Bei den Herpesvirenerkrankungen allerdings ist die Negativkontrastierung kritisch zu beurteilen, mit einer gewissen Fehlerquote ist zu rechnen. Sie beträgt bei den klinisch hochwahrscheinlich mit Herpesviren Infizierten 32,9 % (71 von 216 Patienten).

Nachfolgende Erkenntnisse können die Mißerfolgsrate reduzieren helfen:

1. Durch die genaue anamnestische Unterscheidung zwischen einer Ersterkrankung und einer Rezidivkrankung wird der untersuchende Arzt für die möglichen Fehlerursachen sensibilisiert.

Für Rezidive gilt: Sicherster Virusnachweis gelingt aus den Bläscheninhalt innerhalb 24 Stunden nach Krankheitsausbruch, denn eine zeitlich stark verkürzte oder quantitativ geringere Virusausscheidung verhindert bereits nach 72 Stunden Bläschenpersistenz ein viruspositiven Ergebnis (10, 33, 38, 167, 180, 188). Daraus erklärt sich die hohe Fehlerquote von 37,1 % (23 von 62 Patienten).

Für Erstinfekte gilt: Der höchste prozentuelle Fehleranteil (insgesamt 31,2 %, 48 von 154 Patienten) lag in dieser Gruppe bei Schleimhautläsionen; Herpes genitalis und Gingivostomatitis herpetica. Hier gehen die Bläschen meist innerhalb 2-4 Tagen in Erosionen über, eine herabgesetzte Virusausscheidung und erschwerte Materialentnahme sind mutmaßlich für die Fehlerquote verantwortlich (64, 141, 149, 164, 202).

2. Entnahmefehler aus nichtrelevanten Läsionen, wie eingetrocknete, fettige oder hämorrhagische Vesikel betrugen 32,4 % (23 von 71 "falsch-Negativen") der Fehlerquote. Ein Erregernachweis ist sehr erschwert und in der Regel unmöglich (50, 95, 149, 188).

Auch eine antivirale Anbehandlung der Läsionen könnte der Grund für "falsch-negative" Befunde sein (177).

3. Ebenso erfordert die elektronenmikroskopische Durchmusterung der Präparate Erfahrung, denn charakteristische Virusstrukturen werden gelegentlich erst nach längerem Suchen gefunden.

Die Frage nach einer asymptomatischen Virusausscheidung (vor allem beim Herpes genitalis) bedarf für die Zukunft noch wissenschaftlicher Klärung (1, 69, 86, 144, 198). Ein Virusnachweis bei einer klinisch inapparenten Person kann zu einer scheinbar widersprüchlichen viruspositiven Negativkontrastierung führen.

"Falsch-positive" Ergebnisse kamen praktisch kaum vor. Hier können Sekundärinfektionen (wie Pilzbefall) die eigentliche herpetische Krankheitsursache kaschieren. Nur wenn lediglich Nukleokapside ohne typische Hüllen gefunden werden, müssen virusartige Artefakte ausgeschlossen werden.

Der Stellenwert der Negativkontrastierung zur Herpesvirendiagnostik muß jedoch nach vorliegender Fehlerquote gemessen werden. Aus dieser Sicht ergab sich bei Herpesvirenerkrankungen eine diagnostische Aussagekraft für diese Technik von 79,4 %. Kennzeichnend ist eine hohe Spezifität bei Herpesverdächtigen von 97,9 % im Vergleich zu einer relativ unvollständigen Erfassung (Sensitivität = 67,1 %) der tatsächlich mit Herpesviren infizierten Personen.

Im Vergleich zu anderen Methoden (Tabelle 1, Seite 31) liefert die Negativkontrastierung aber rasche Ergebnisse für die klinische Diagnostik. Für die Routineuntersuchung ist auch der Nachweis von Herpesviren mit Hilfe monoklonaler Antikörper vermutlich relativ einfach und aussagekräftig (96). Serologische Methoden, auch wenn mehrere und unterschiedliche Testverfahren durchgeführt werden, sind vor allem bei Rezidivkrankungen heute immer noch problematisch. Neuere molekularbiologische Tests wie die Restriktionsenzymanalyse und die Hybridisierungstechnik haben dagegen mehr eine wissenschaftliche Bedeutung (171). Die Virusdiagnostik mittels Zellkultur ist zeitaufwendig und nicht immer positiv (164, 165) und muß zur Spezifizierung durch zusätzliche Methoden ergänzt werden. Da alle diese diagnostischen Maßnahmen unterschiedliche Vor- und Nachteile aufweisen, ist die Negativkontrastierung zum ultrastrukturellen Nachweis von Herpesviren trotz einer gewissen Rate von "falsch-negativen" Befunden nach wie vor zu empfehlen.

9.0 ZUSAMMENFASSUNG

Der erste Teil der Arbeit stellt das technische Verfahren und die Virusmorphologie bei der Negativkontrastierung vor. Anschließend folgt eine Charakterisierung der Virusinfektionen der Haut: Der Herpesvirusgruppe (Herpes simplex- und Varizella-Zoster-Virus), der Pockengruppe (Molluscum contagiosum, Ecthyma contagiosum (Orf) und Melkerknoten) und der Hand-Fuß-Mundkrankheit.

Die Negativkontrastierung wird neben anderen Möglichkeiten der Virusdiagnostik dargestellt. Ihre Bedeutung für den schnellen, direkten Virusnachweis unterstrichen. Unklar jedoch ist die diagnostische Aussagekraft dieses Verfahrens. Diskrepanzen zwischen klinischem Krankheitsverlauf und den Ergebnissen dieser Methode werden durch eine retrospektive Analyse (durchgeführt von 1977 bis März 1985) anhand von 412 Patienten untersucht.

377 Patienten waren herpesverdächtig, 14 waren der Pockengruppe zuzuordnen, bei 13 vermutete man ein postherpetisches Erythema exsudativum multiforme und bei 8 lag eine Hand-Fuß-Mundkrankheit vor.

Ausschließlich die Herpesdiagnosen waren mit einem Fehler behaftet. Krankheitsspezifische Kriterien (klinisches Bild, Laboruntersuchungen und Krankheitsverlauf) sicherten die klinische Herpesdiagnostik, die Fehlerquote bei der Negativkontrastierung wurde eruiert.

154 der 377 verdächtigen Personen hatten Erstinfekte, 62 Rezidive. Ein deutlicher Gipfel an Herpesersterkrankungen liegt um das 20. Lebensjahr. Frauen waren mit 51,4 % öfter als Männer, 48,6 %, erkrankt.

Bei 71 von 216 Präparaten (32,9 %) wurden keine Viren gefunden, obwohl es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um eine Herpesviren-erkrankung gehandelt hat; dabei zeigten vor allem die Fälle mit Erkrankungen an Mund- oder Genitalschleimhaut (n = 41) eine höhere Quote von "falsch-negativen" Befunden (46,3 %). Rezidiv-erkrankungen, durch eine zeitlich stark verkürzte Virusausscheidung charakterisiert, hatten eine Fehlerrate von 37,1 % (23 von 62 Personen) gegenüber 31,2 % (48 von 154 Personen) bei Erst-erkrankungen.

32,4 % (23 der 71 "falsch-Negativen") der Mißerfolgsrate entfiel auf Materialentnahmefehler aus nichtrelevanten Läsionen.

Bei 3 von 144 Patienten wurden virusartige Strukturen gefunden, obwohl eine Herpesinfektion unwahrscheinlich erschien; sie konnte letztlich jedoch nicht sicher ausgeschlossen werden.

Die vorliegende Untersuchung ergab damit eine diagnostische Aussagekraft der Negativkontrastierungsmethode von 79,4 % bei einer Sensitivität von 67,1 % und einer Spezifität von 97,9 %.

Unterschiedliche Gründe kommen für die "falsch-negativen" Befunde in Betracht: Fehler bei der Materialentnahme (vor allem hämorrhagische oder fetthaltige Präparate), zu geringfügiges Sekret bei erosiven oder ulzerierten Läsionen oder eventuell eine antivirale Vorbehandlung. Aber auch die individuell verschiedene Zeitdauer der Virusausscheidung bei Rezidiven ist zu beachten.

Folgerungen:

Der sicherste Virusnachweis gelingt aus dem Bläscheninhalt innerhalb der ersten 24 Stunden nach Krankheitsausbruch. Dies gilt insbesondere für Rezidivkrankungen, wo eine zeitlich stark verkürzte oder quantitativ stark verringerte Virusausscheidung einen späteren Erregernachweis unmöglich macht.

Primärinfektionen sollten anamnestisch besonders sorgfältig hinterfragt werden, da die Möglichkeit einer rezidivierenden Erkrankung stets gegeben ist. Eine quantitative oder zeitliche Reduzierung der Virusausscheidung bei Schleimhautbefall könnte auch hier den hohen Nachweisfehler erklären.

Die asymptomatische Virusausscheidung, vor allem beim Herpes genitalis, bedarf noch wissenschaftlicher Klärung. Durch sie und durch eventuelle Sekundärinfektionen können die vereinzelt "falsch-positiven" Ergebnisse gedeutet werden.

10.0 LITERATURVERZEICHNIS

1. Adam E, Dreesman DE, Kaufman RH, et al. 1980. Asymptomatic virus shedding after herpes genitalis. *Am J Obst Gynecol* 137: 877-930
2. Almeida JD, Howatson AF, Williams MG. 1962. Morphologie of varicella (chicken pox) virus. *Virology* 16: 353-355.
3. Anderson NP. 1945. Erythema multiforme: its relationship to herpes simplex. *Arch Dermatol* 51: 10-16
4. Appelbaum E, Kreps SJ, Sunshine A. 1962. Herpes zoster encephalitis. *Am J Med* 32: 25-31
5. Arbeit JD, Zaia JA, Valerio MA, Levin MJ. 1982. Infection of human peripheral blood mononuclear cells by varicella-zoster virus. *Intervirology* 18: 56-65.
6. Asano Y, Takahashi M. 1979. Studies on the polypeptides of varicella-zoster virus. I. Detection of varicella-zoster virus polypeptides in infected cells. *Biken J* 22: 81-89
7. Asano Y, Takahashi M. 1980. Studies on the polypeptides of varicella-zoster virus. II. Synthesis of viral polypeptides in infected cells. *Biken J* 23: 95-106
8. Back JPA, Oort I. 1983. A manual of microphotometry in diagnostic pathology. Springer, Berlin-Heidelberg-New-York-Tokyo: 29.
9. Back AF, Schmidt NJ. 1974. Typing Herpesvirus hominis Antibodies and Isolates by Inhibition of the Indirect Hemagglutination Reaction. *Appl Microbiol* 28: 400-405.
10. Bader C, Crumpacker CS, Schnipper LE. 1978. The natural history of recurrent facial oral infection with herpes simplex-virus. *J Infect Dis* 138: 897-905.
11. Balfour HH, Groth KE. 1979. Zoster immune plasma prophylaxis of varicella: A follow-up report. *J Pediatr* 94: 743.
12. Baringer JR, Suoveland P. 1973. Recovery of herpes simplex virus from human trigeminal ganglions. *N Engl J Med* 288: 648-650.
13. Bastian FO, Rabson AS, Yee CL, Tralka TS. 1974 Herpesvirus varicellae: isolated from human dorsal root ganglia. *Arch Pathol* 97: 331-333
14. Berman A, Winkelmann RK. 1980. Involuting common warts. *J Am Acad Dermatol* 3: 356-362.
15. Bierman SM. 1976. The mechanism of recurrent infection by Herpes virus hominis. *Arch Dermatol* 112: 1459-1461.
16. Blank H, Haines H. 1976. Viral diseases of the skin, 1975: A 25-year perspective. *J Invest Dermatol* 67: 169-176.
17. Bradley DE. 1962. A study of the Negative Staining Process. *J gen Microbiol* 29: 503-516
18. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH. 1984. *Dermatologie und Venerologie*. Springer. Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo. 3. Auflage.
19. Brautigam AR, Richmann DD, Oxman Mn. 1980. Rapid typing of herpes simplex virus isolates by desoxyribonucleic acid: desoxyribonucleic acid hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 12, 226-234.

20. Brunell PA, Gershon AA, Hughes WT, Riley HDJr, Smith J. 1972. Prevention of Varicella in High Risk Children: A Collaborative Study. *Pediatrics* 50: 718-722.
21. Brunell PA, Wolman SR, Steinberg S. 1972. Propagation of Varicella-Zoster Virus in a Diploid Strain of Embryonic Thyroid Cells from the Rhesus Monkey. *J Infect Dis* 125:545.
22. Buchman TG, Roizman B, Adams G, Stover BH. 1978. Restriction endonuclease fingerprinting of herpes simplex DNA: a novel epidemiological tool applied to a nosocomial outbreak. *J Infect Dis* 138: 488-498.
23. Buchman TG, Roizman B, Nahmias AJ. 1979. Demonstration of exogenous genital reinfection with herpes simplex virus type 2 by restriction endonuclease fingerprinting of viral DNA. *J Infect Dis* 140:295.
24. Buddingh GJ, Schrum DJ, Lanier JC, Guidry DJ. 1953. Studies of the natural history of herpes simplex infections. *Pediatrics* 11: 595-610.
25. Callen JP, Dahl MV, Golitz LE, Rasmussen JE, Stegman SJ. 1984. *Current Issues in Dermatology*. G.K. Hall Medical Publishers. Boston, Massachusetts 1: 235-237.
26. Cappel R, Henry C, Thiry L. 1975. Experimental Immunosuppression Induced by Herpes Simplex Virus. *Arch Virol* 49: 67-72.
27. Cheng Y-C, Tsou TY, Hackstadt T, Mallavia LP. 1979. Induction of thymidine kinase and DNase in varicella-zoster virus-infected cells and kinetic properties of the virus-induced thymidine kinase. *J Virol* 31: 172-177.
28. Cherry JD, Nelson DB. 1966. Enterovirus infections: their epidemiology and pathogenesis. *Clin Pediatr* 5: 659-664.
29. Clarke SKR, et al. 1964. Hand, foot, mouth disease (letter) *Br Med J* 1:58
30. Corey L, Reeves WC, Holmes KK. 1978. Cellular Immune Response in Genital Herpes Simplex Virus Infection. *N Engl J Med* 299: 986-991
31. Corey L, Holmes KK, Benedetti J, Critchlow C. 1981. Clinical Course of Genital Herpes: Implications for Therapeutic Trials. In: *The human herpes viruses: an interdisciplinary perspective*. New York, Elsevier. p. 496-502.
32. Dales S, Silverberg H. 1969. Viroplexis of Herpes simplex virus by He La cells. *Virology* 37: 475-480.
33. Daniels CA, Le Goff SG, Notkins AL. 1975. Shedding of infectious virus / antibody complexes from vesicular lesions of patients with recurrent herpes labialis. *Lancet* 2: 524-528.
34. Daschner F. 1983. *Infektionskrankheiten*. Springer. Berlin-Heidelberg-New York.
35. Davis CM, Musil G. 1970. Milker's nodule. *Arch Dermatol* 101: 305-311.

36. De Nicola and Hanshaw. 1979. Varicella congenital and neonatal (Editors column). *J Pediatr* 94:175.
37. Doberson MJ, Jerkofsky M, Greer S. 1976. Enzymatic basis for the selective inhibition of varicella-zoster virus by 5-halogenated analogues of deoxycytidine. *J Virol* 20: 478-486.
38. Dostanic I, Konstantinovic S, Lekovic B, Skendzic M, Kneitner I. 1983. Klinische Erfahrungen mit der Behandlung des Herpes simplex recidivans mit Dyclonine Hydrochlorid (DL 845). *Der Hautarzt* 34: 162-163, Suppl. VI.
39. Douglas RG Jr, Couch RB. 1970. A prospective study of chronic herpes simplex-virus infection and recurrent herpes labialis in humans. *J Immunol* 104: 289-295.
40. Duff MF. 1968. Hand-foot-and mouth syndrome in humans: Cocksackie A 10 infection in New Zealand. *Br Med J* 2: 661-664.
41. Eis AM, Sethi KK, Schneeweis KE. 1984. Studies on the relative roles of cell-mediated and humoral immunity in the course of experimental herpes simplex virus infection. *Zbl Bakt Hyg A* 257:135.
42. Eis AM, Schneeweis KE. Pathogenesis of genital herpes simplex virus infection in mice. IV. Quantitative aspects of viral latency in dependence of the modified peripheral infection. *Med Microbiol Immunol* (in Vorbereitung).
43. Esiri MM, Tomlinson AH. 1972. Herpes zoster: demonstration of virus in trigeminal nerve and ganglion by immunfluorescence and electron microscopy. *J Neurol Sci* 15: 35-48.
44. Evans AS, Niederman JC. 1976. Epstein-Barr virus. In: *Viral Infections of Humans*. Edited by Evans AS, New York, Plenum pp. 209-233.
45. Fanta D. 1983. Herpes genitalis - Herpes neonatorum: Risiken und Konsequenzen. *Der Hautarzt* 34: 162-163, Suppl. VI.
46. Feldman S, Hughes WT, Kim HY. 1973. Herpes zoster in children with cancer. *Am J Dis Child* 126: 178-184.
47. Feldman S, Hughes WT, Daniel CB. 1975. Varicella in children with cancer: seventy-seven cases. *Pediatrics* 56: 388-397.
48. Feldman S, Epp E. 1979. Detection of viremia during incubation of varicella. *J Pediatr* 94: 746-748.
49. Fibi M, Richle H, Keil G, Ebeling-Keil A, Koszinowski U. 1984. In vitro Model of a Latent-Herpesvirus Infection. *Zbl Bakt Hyg A* 257:136.
50. Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg JM, Austen KF. 1979. *Dermatology in General Medicine*. Mc Graw-Hill Book Company.
51. Flewe HTH, et al. 1963. "Hand, foot, and mouth disease" associated with Cocksackie A 5 virus. *J Clin Pathol* 16: 53-55.

52. Forghani B, Schmidt NJ, Lennette EH. 1975. Solid Phase Radioimmunoassay for Typing Herpes simplex Viral Antibodies in Human sera. *J Clin Microbiol* 2: 410-418.
53. Forman L, Whitwell GPB. 1934. The association of herpes catarrhalis with erythema multiforme (Hebra). *Br J Dermatol* 46: 309-311.
54. Gerdes JC, Smith DS. 1983. Recurrence phenotypes and establishment for latency following rabbit keratitis produced by multiple herpes simplex virus strains. *J Gen Virol* 64:2441.
55. Gershon AA, Steinberg S, Brunell PA. 1974. Zoster Immune Globulin. *N Engl J Med* 290:243.
56. Ghatak NR, Zimmerman HM. 1973. Spinalganglion in herpes-zoster. A light and electron mikroskopische study. *Arch Pathol* 95: 411-415.
57. Gilden DH, Wroblewska Z, Kindt V, Warren KG, Wolinsky JS. 1978. Varicella-Zoster Virus Infection of Human Brain Cells and Ganglion Cells in Tissue Culture. *Arch Virol* 56:105.
58. Glasgow LA, et al. 1977. Immunomodulation of Host Resistance to Experimental Viral Infections in Mice: Effects of *Corynebacterium acnes*, *Corynebacterium parvum*, and *Bacille Salunette-Guerin*. *J Infect Dis* 135: 763-770.
59. Goetz O, Wolff HH, Peller P. 1974. Vaccina translata mit ungewöhnlicher Lokalisation. *Klin. Pädiatr* 186: 489-491.
60. Gobara F, Itagaki A, Ito Y, Saito K, Katsumoto T, Kimura G. 1977. Properties of Virus Isolated from an Epidemic of Hand-Foot-and Mouth Disease in 1973 in the City of Matsue. Comparison with Coxsackievirus Group A Type 16 Prototype. *Microbiol Immunol* 21 (4): 207-217.
61. Gold E. 1966. Serologic and virus-isolation studies of patients with varicella or herpes-zoster infection. *N Engl J Med* 274: 181-185.
62. Graham JG, Bingul O, Burgoon CBJr. 1963. Cytodiagnosis of inflammatory dermatoses. *Arch Dermatol* 87: 118-127.
63. Grose C, Brunell PA. 1978. Varicella-Zoster Virus: Isolation and Propagation in Human Melanoma Cells at 36 and 32°C. *Infect Immun* 19:199.
64. Guinan ME, MacCahnan J, Kern ER, et al. 1981. The course of untreated recurrent herpes simplex infection in 27 women. *N Engl J Med* 304: 759-763.
65. Haagen E. 1969. Viruskrankheiten des Menschen. Dr. Dietrich Steinkoff Verlag, Darmstadt. Bd. 2.
66. Hackstadt T, Mallavia LP. 1978. Deoxypyrimidine nucleoside metabolism in varicella-zoster virus-infected cells. *J Virol* 25: 510-517.
67. Harbour DA, Count AE. 1975. Infection of Guinea-Pig Embryo Cells with Varicella-Zoster Virus. *Arch Virol* 49:39.

68. Hasegawa T, Fujiwara E, Ametani T, et al. 1969. Further electron microscopic observation of molluscum contagiosum virus. Arch Dermatol 90: 479-482.
69. Hatherley LJ, Hayes K, Jack I. 1980. Herpesvirus in an obstetric hospital: II. Asymptomatic virus excretion in staff members. Med J Anst 2: 273-275.
70. Hayden FG. 1982. Necrotizing Balanitis due to Herpes Simplex Type I. J Amer Med Ass 248: 215-216.
71. Hayward GS, Frenkel N, Roizman B. 1975. Anatomy of herpes simplex virus DNA: strain difference and heterogeneity in the locations of restriction endonuclease cleavage sites. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 72: 1768-1772.
72. Henle W, Henle G. 1979. Seroepidemiology of the virus. In: The Epstein-Barr Virus. Edited by Epstein MA, Achong BG, New York, Springer Verlag, p. 61.
73. Herzberg K, Kleinschmidt AK, Lang D, Reuss K, Dahn R. 1963. Vergleichende Virusdarstellung mit Phosphorwolframsäure. Zbl Bact I Abt Orig 188: 440-447.
74. Herzberg K, Kleinschmidt AK, Lang D, Reuss K, Dahn R. 1963. Über die Struktur des Zoster-Virus und eine weitere Darstellungsmöglichkeit seiner Capsomeren. Zbl Bact I Abt Orig 189: 1-13.
75. Hill TJ. 1981. Mechanismus Involved in Recurrent Herpes Simplex. In: The human herpesviruses: an interdisciplinary perspective. Edited by Nahmias AJ, Dowdle WR, Schinazi RF, New York: Elsevier pp 241-244.
76. Ho M. 1979. Cytomegalo virus. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Edited by Mandell GL, Douglas RG Jr, Bennett JE, New York, Wiley pp 1307-1323.
77. Honig PJ, Holzwanger J, Leyden JJ. 1979. Congenital herpes simplex virus infections. Arch Dermatol 115: 1329-1333.
78. Hope-Simpson RE. 1965. The nature of herpes zoster: a long term study and a new hypothesis. Proc Soc Med 58: 9-20.
79. Horwitz CA, Henle W, Henle G, Segal M, Arnold T, Lewis FB, Tanick D, Ward PCJ. 1976. Clinical and laboratory evaluation of elderly patients with heterophil-antibody positive infections Mononucleosis. Am J Med 61: 333.
80. Hughes KP, Roberts C. 1972. Hand-foot-mouth disease associated with Coxsackie A 9 virus. Lancet 1972, 2: 751-752.
81. Hunt E. 1954. Diseases Affecting the Vulva. ed 4 London. Henry Kimpton: p 195.
82. Hutchinson TH, Kelly AMT, Mawhinney H. 1978. A review of aetiological factors in erythema multiforme. Ulster Med 47: 95-99.
83. Hyman RW, Ecker JR, Tenser RB. 1983. Varicella-Zoster-Virus RNA in human trigeminal ganglia. Lancet 1983, II: 814.

84. Jarish R, Sandor I. 1977. MIF in der Therapiekontrolle von Herpes simplex recidivans: Behandlung mit Levamisole, BCG, Urushiol und Herpes Antigen Vaccine. Arch Derm Res 258: 151-159.
85. Jarratt MT, Hubler WR. 1974. Herpes genitalis and aseptic meningitis. Arch Dermatol 110: 771-772.
86. Jarratt MT. 1983. Herpes Simplex Infection. Arch Dermatol 119: 99-103.
87. Johannessen JV, Krogh KH, Solberg J, et al. 1975. Human orf. J Cutan Pathol 1975, 2: 256-283.
88. Jones BR. 1976. The need of antiviral therapy and prophylaxis of viral ocular disease. J Infect Dis 133: A93-A95.
89. Kain HK, Feldman CA, Cohn LH. 1962. Herpes zoster generalisatus pneumonia. Arch Intern Med 110: 98-101.
90. Kalimo OK, Marttila RJ, Granfors K, Viljanen MK. 1977. Solid-Phase Radioimmunoassay of Human Immunoglobulin M and Immoglobulin G Antibodies Against Herpes Simplex Virus Type 1 Capsid, Envelope, and Excreted Antigens. Infect Immun 15: 883-889.
91. Kapoor AK, Nash AA, Wildy P. 1982. Pathogenesis of herpes simplex virus in B cell-suppressed mice: the relative roles of cell-mediated and humoral immunity. J Gen Virol 61: 127.
92. Karger. 1971. Epidemiology: mode of transmission. In: Cytomegalovirus Infections of Man. Edited by Krech UH, Jung M, Jung F, New York pp. 18-35.
93. Klein RJ. 1976. Pathogenetic Mechanisms of Recurrent Herpes Simplex Virus Infections. Arch Virol 51: 1-13.
94. Klemola E, von Essen R, Wager O, Haltia K, Voivuniemi A, Salmi I. 1969. Cytomegalovirus mononucleosis in previously healthy individuals. Ann Intern Med 71: 11-19.
95. Korting. 1981. Dermatologie in Praxis und Klinik. Georg Thieme Verlag: Stuttgart-New York
96. Korting, HC, Abeck D, Schmoeckel C. 1986. Vergleichende Bewertung des Herpes-Virus-Nachweises mittels fluoreszenzmarkierter monoklonaler Antikörper und elektronenmikroskopischer Negativkontrastechnik bei dermatovenerologischen Erkrankungen. Ergebnisse einer Pilotstudie an 30 Patienten. Hautarzt (im Druck).
97. Krüger GG, Spruance SC, Overall JC. 1978. Herpes labialis: A review of pathogenesis, natural history and therapy. I Cont Educ Dermatol 16: 19-37.
98. Lang DJ. 1975. The epidemiology of cytomegalovirus infections: interpretation of recent observations. In: Infections of the Fetus and Newborn Infant. Edited by Krugman S, Gershon AA, New York. Alan R. Liss 1975 (Vol 3): 35-46.

99. Leavell UW Jr, Phillips IA. 1975. Milker's nodules. Arch Dermatol 111: 1307-1311.
100. Lee FK, Takei Y, Nahmias AJ, Visintine AM, Whitley RJ. 1981. Rapid Diagnosis of Herpes Simplex Encephalitis by Electron Microscopy. In: The human herpes viruses: an interdisciplinary perspective. Edited by Nahmias AJ, Dowdle WR, Schinazi RF. New York: Elsevier pp 644-645.
101. Levenson I. 1984. Herpes Simplex Infection (letter) Arch Dermatol 120: 567.
102. Lever WF, Schaumburg-Lever G. 1983. Histopathology of the Skin. 6th Edition, Chapter 21 p 360-378.
103. Lewis ME, Leung WC, Jeffrey VM, Warren KG. 1984. Detection of multiple strains of latent herpes simplex virus type 1 within individual human hosts. J Virol 52: 300.
104. Lindenbaum JE, et al. 1975. Hand, foot and mouth disease associated with Coxsackie virus group B. Scand J Infect Dis 7: 161-163.
105. Lippert W. 1964. Bemerkungen zum Kontrast beim "negative staining" der Elektronenmikroskopie. Die Naturwissenschaften 1964: 408.
106. Liu C, Llanes-Rhodas C. 1972. Application of the immunofluorescent technic to the study of pathogenesis and rapid diagnosis of viral infections. Am J Clin Pathol 57: 829-834.
107. Luger A. 1971. Verlauf und Behandlung der Infektionen mit dem Herpesvirus hominis. I. Epidemiologie, Klinik und Serologie (Review). Z Hautkr 46: 387-394, 399-408.
108. Lutzner MA. 1967. Virusdiseases. In Ultrastructure of Normal and Abnormal Skin (A.S. Zelikson, Ed.) p. 365-387, Philadelphia. Lea & Febinger (1967).
109. Lycke E, Kristensson K, Svennerholm B, Vahlue A, Ziegler R. 1984. Uptake and transport of herpes simplex virus in neurites of rat dorsal root ganglia cells in culture. J Gen Virol 65: 55.
110. Marcy SM, Kibrick S. 1977. Varicella and herpes zoster. In: Infections Diseases. Edited by Hoperich PD, New York, Harper & Row, 1977: 744-758.
111. Marghescu S, Wolff HH. 1977. Untersuchungsverfahren in Dermatologie und Venerologie. JF Bergmann-Verlag, München (2. Auflage).
112. McCracken GH Jr, Shinefield HR, Cobb K, Ransen AR, Dische R, Eichenwald HF. 1969. Congenital Cytomegalolc Inclusion Disease. Am J Dis Child 117: 522-539.
113. Mc Lennan JL, Darby G. 1980. Herpes simplex virus latency: the cellular location of virus in dorsal root ganglia and the fate of the infected cell following virus activation. J Gen Virol 51: 233.
114. Melish ME, Hanshow JB. 1973. Congenital Cytomegalovirus Infection. Am J Dis Child 126: 190-194.

115. Miyamoto K. 1971. Mechanism of Intranuclear Crystal Formation of Herpes Simplex Virus as revealed by the Negative Staining of thin sections. *J Virol* 8: 534-550.
116. Miller GD, Tindall JP. 1968. Hand, foot, and mouth disease. *JAMA* 203: 827-830.
117. Minamishima Y, Eizuru Y. 1977. Susceptibility of Primate Diploid Cells to Human Herpes viruses. *Microbiol Immunol* 21: 667.
118. Molin L. 1969. Aspects of the natural history of herpes zoster. *Acta Derm Venerol (Stockh.)* 49: 469.
119. Morecki R, Becker NH. 1968. Human herpes-virus infection. Its fine structure identification in paraffin-embedded tissue. *Arch Pathol* 68: 292-307.
120. Morgan C, Rose HM, Mednis B. 1968. Electron microscopy of herpes simplex virus. I. Entry *J Virol* 1968, 2: 507-516.
121. Müller G, Peters D. 1963. Substrukturen des Vaccine virus, dargestellt durch Negativkontrastierung. *Arch ges Virusforschung* 13: 435.
122. Muller SA, Winkelmann RK. 1969. Cutaneous nerve changes in zoster. *J Invest Dermatol* 52: 71-77.
123. Nagington J, Horne RW. 1962. Morphological Studies of Orf and Vaccinia Viruses. *Virology* 16: 248-260.
124. Nagington J, Newton AA, Horne RW. 1964. The structure of Orf virus. *Virology* 23: 461-472.
125. Nahmias AJ, des Buono I, Pipkin J, Hutton R, Wickliffe C. 1971. Rapid identification and typing of herpes simplex virus type 1 and 2 by a direct immunofluorescence technique. *Appl Microbiol* 22: 455-458.
126. Nahmias AJ, Roizman B. 1973. Infection with herpes simplex-viruses 1 and 2. *N Engl J Med* 289: 667-674, 719-725, 781-789.
127. Nahmias AJ, Visintine A. 1976. Herpes simplex. In: *Infections Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. Edited by Renington J, Klein J, Philadelphia, Saunders 1976: 156-190.
128. Nahmias AJ, Dowdle WR, Schinazi RF. 1981. The human herpes viruses an interdisciplinary perspective. New York: Elsevier, pp. 1-721.
129. Nasemann T. 1964. Über das postherpetische erythema exsudativum multiforme. *Hautarzt* 15: 346-352.
130. Nasemann T. 1965. Die Infektionen durch das Herpes-simplex-Virus. Fischer-Verlag, Jena.
131. Nasemann T, Braun-Falco O. 1970. Virustatische Substanzen in der Lokalbehandlung herpetischer Dermatosen. *Therapie der Gegenwart* 109/222 (Urban & Schwarzenberg)
132. Nasemann T, Sauerbrey. 1974. *Hautkrankheiten und venerische Infektionen*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.

133. Nasemann T. 1974. Viruskrankheiten der Haut, Schleimhäute und des Genitals. Stuttgart: Thieme.
134. Nasemann T, Jänner M, Schütte B. 1982. Histopathologie der Hautkrankheiten. Berlin: Springer, Berlin-Heidelberg-New York.
135. Nermut MV. 1972. Methods of negative staining. In: Methoden-sammlung der Elektronenmikroskopie. Schimmel G, Vogell W. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.B.H., Stuttgart.
136. Nermut MV. 1972. Negative staining of Viruses. J Microsc 96: 351-362.
137. Noyes WF. 1962. The surface Fine Structure of Vaccina Virus. Virology 17: 282-287.
138. Ogino T, Osuka T, Takahashi M. 1977. Induction of deoxypyrimidine kinase activity in human embryonic lung cells infected with varicella-zoster virus. J Virol 21: 1232-1235.
139. Oranje AP, Folkers E, Chonfoer-Halova J, Duivenvoorden IN, 1986 Diagnostic value of Tzanck smear in herpetic and nonherpetic vesicular and bullous skin disorders in pediatric practice. Acta Derm Venerol (Stockh) 66: 127-133.
140. Orfanos CE, Runne U. 1975. Virusausbreitung, Virus-Replikation und Virus-Elimination in der menschlichen Haut beim Zoster. Hautarzt 26: 181-190.
141. Overall JC Jr. 1981. Antiviral Chemotherapy of Oral and Genital Herpes Simplex Virus Infections. In: The human herpes viruses: an interdisciplinary perspective. Edited by Nahmias AJ, Dowdle WR, Schinazi RF. New York: Elsevier pp. 452-453.
142. Peters D, Müller G, Geister R. 1962. Zur Deutung sogenannter "inkompletter" Formen bei der Negativkontrastierung von Viren. Arch ges Virusforschung 12: 437-440.
143. Rand KH, Rasmussen LE, Pollard RB, Arvin A, Merigan TC. 1977. Cellular Immunity and Herpesvirus Infections in Cardiac-Transplant Patients. N Engl J Med 296: 1372-1377.
144. Rattray MC, Corey L, Reeves WC, et al. 1978. Recurrent genital herpes among woman: Symptomatic and asymptomatic virus shedding. Br J Vener Dis 54: 262-265.
145. Reboul F, Donaldson SS, Kaplan HS. 1978. Herpes zoster and varicella infections in children with Hodgkin's disease: an analysis of contributing factors. Cancer 41: 95-99.
146. Reeves WC, Corey L, Adams HG, Vontver LA, Holmes KK. 1981. Risk of recurrence after first episodes of genital herpes. Relation to HSV type and antibody response. N Engl J Med 305: 315.
147. Richards JC, Hyman RW, Rapp F. 1979. Analysis of the DNA's from Seven Varicella-Zoster Virus Isolates. J Virol 32: 812.

148. Roizman B. 1982. The family Herpes viridae: General description, taxonomy and classification. In: Roizman B (ed) The herpesviruses, Vol. 1, Plenum Press, New-York-London S 1.
149. Rook, Wilkinson, Ebling. 1979. Textbook of Dermatology. Blackwell Scientific Publications, Oxford-London-Edinburgh-Melbourne, Third Edition.
150. Ruzicka T, Schmoeckel C, Ryckmanns F. 1983. Ecthyma Contagiosum und Melkerknoten, Münch med Wschr 125 Nr. 47: 1103-1104.
151. Ruzicka T. 1983. Melkerknoten. In: Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie (10). Braun-Falco O, Burg G. Springer: Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo. 472-473.
152. Schimmel G, Vogell W. 1972. Methodensammlung der Elektronenmikroskopie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H. Stuttgart.
153. Schmidt NJ, Lennette EH, Woodie JD, Ho HH. 1965. Immuno-fluorescent staining in the laboratory diagnosis of varicella-zoster virus infections. J Lab Clin Med 66:403.
154. Schneeweis KE, 1983. Infektionen mit Viren der Herpesvirus-Gruppe. Münch. Med. Wschr. 125, 1067-1070.
155. Schneeweis KE, Forstbauer H, Olbrich M, Tag M. 1984. Pathogenesis of genital herpes simplex virus infection in mice. III. Comparison of the virulence of wild and mutant strains. Med Microbiol Immunol 173: 187.
156. Schneeweis KE. 1985. Über die latente persistierende Infektion durch Herpes simplex - und Varicella-Zoster-Virus. Internist 26: 68-72.
157. Schopfer L, Lauber E, Krech U. 1978. Congenital cytomegalovirus infection in newborn infants of mothers infected before pregnancy. Arch Dis Child 53: 536-539.
158. Sefcovicova L. 1971. Varicella-zoster virus cultivation in cell cultures of non-primate Origin. Acta Virol 15: 171.
159. Shelley WB. 1967. Herpes simplex virus as a cause of erythema multiforme. JAMA 201: 153-156.
160. Shemer Y, Leventon-Kriss S, Sarov J. 1980. Isolation and polypeptide characterization of varicella-zoster virus. Virology 106: 133-140.
161. Shore SL, Feorino PM. 1981. Immunology of Primary Herpes-virus Infections in Humans. In: The human herpesviruses: an interdisciplinary perspective. Edited by Nahmias AJ, Dowdle WR, Schinazi RF. New York: Elsevier. pp. 267-288.
162. Smith JW, Pentherer JF, Mac Callum FO. 1967. The incidence of Herpesvirus hominis antibody in the population. J Hyg (Camb) 65: 395-408.

163. Sokal JE, Firat D. 1965. Varicella-zoster infection in Hodgkin's disease. *Am J Med* 39: 452-463.
164. Solomon AR, Rasmussen JE, Varani I, Pierson CL. 1984. The Tzanck smear in the diagnosis of cutaneous herpes simplex. *JAMA* 251: 633-635.
165. Solomon AR, Rasmussen JE, Weiss JS. 1986. A comparison of the Tzanck smear and viral isolation in varicella and herpes zoster. *Arch Dermatol* 122: 282-285.
166. Spence MR. 1978. Inapparent sexual transmission of herpes simplex virustype II infection with subsequent neonatal death: Case report. *Am J Obstet Gynec* 130: 590-591.
167. Spruance SL, Overall JC Jr, Kern ER, Krueger GG, Pliam V, Miller W. 1977. The natural history of recurrent Herpes simplex labialis. *N Engl J Med* 297: 69-75.
168. Stagno S, Reynolds DW, Tsiautos A, Fucillo DA, Long W, Alford CA. 1975. Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Infect Dis* 132: 568-577.
169. Staldo H, Oxman MN, Hermann KL. 1975. Herpes Simplex Virus Microneutralization: A Simplification of the Test. *J Infect Dis* 131: 423-430.
170. Starke G, Hlinak P. 1972. *Grundriß der Allgemeinen Virologie*. Fischer, Stuttgart.
171. Stary A. 1985. Neuere diagnostische Methoden beim Herpes simplex. *Z. Hautkr.* 60 (22): 1767-1779.
172. Steele RW, Keeney RE, Bradsher RW, Moses EB, Soloff BL. 1983. Behandlung der varizella-zoster-meningoenzephalitis mit Acyclovir-Nachweis des Virus aus dem Liquor durch EM. *Am J Clin Pathol* 80/1: 57-62.
173. Steffen C, Markman JA. 1980. Spontaneous disappearance of molluscum contagiosum. *Arch Dermatol* 116: 923-924.
174. Stewart JA, Nahmias AJ. 1982. Laboratory diagnosis of herpes simplex infections. In: *Laboratory Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases*. Washington D.C., American Public Health Association, 1982.
175. Stolz W, Schmoekel C, Braun-Falco O. 1986. Chronische Herpes-simplex-Infektion (Herpes simplex persistens et exulcerans) bei chronischer lymphatischer Leukämie. *Hautarzt* (im Druck).
176. Taber LH, Brasier F, Couch RB, Greenberg SB, Jones D, Knight V. 1976. Diagnosis of Herpes simplex Virusinfection by Immunofluorescence. *J Clin Microbiol* 3: 309-312.
177. Tada A, Sekine N, Toba M, Yoshino K. 1977. An Analysis of Factors Influencing the Isolation Rate of Herpes Simplex Virus. *Microbiol Immunol* 21 (4): 219-229.
178. Tagani H, Takigawa M, Ogino A, et al. 1977. Spontaneous regression of plane warts after inflammation. *Arch Dermatol* 113: 1209-1213.

179. Taylor-Robinson D, Caunt AE. 1972. Varicella Virus. Springer: Wien-New York.
180. Underwood GE, Nichol FR. 1971. Chlinical evaluation of Kethoxal against cutaneons herpes simplex. Appl Microbiol 22: 588-592.
181. Valentine RC, Horne RW. 1962. An Assessment of Negative Staining Technic for Revealing Ultrastructure. In: Interpretation of Ultrastructure. ed. Harris RJC 263, New York (1962).
182. Veien NK. 1978. Cytologic examination and viral and bacterial culture in herpes simplex, herpes zoster and varicella. Cutis. 22: 61-64.
183. Vonderheid E, van Voorst Vader PC. 1980. Herpes Zoster-Varicella in Cutaneous T-Cell Lymphomas. Arch Dermatol 116: 408-412.
184. Vonderheid E, Milstain HJ, Thompson KD, Brian CW. 1980. Chronic Herpes Simplex Infection in Cutaneous T-Cell Lymphomas. Arch Dermatol 116: 1018-1022.
185. Walz MA, Price RW, Hayashi K, Katz BJ, Notkins AL. 1977. Effect fo Immunisation on Acute and Latent Infections of Vaginouterine Tissue with Herpes Simplex Virus Types 1 and 2. J Infect Dis 135: 744-752.
186. Wassilew SW, Koch I. 1978. Der Lymphozytentransformations-test bei Patienten mit rezidivierenden Herpes simplex hominis Erkrankungen. Arch Derm Res 262: 267-274.
187. Wassilew SW. 1979. Neue Möglichkeiten der Chemotherapie bei Herpes-simplex-Virus-Infektionen der Haut. Z Hautkr 54: 251-256.
188. Wassilew SW, Nasemann T. 1980. Klinik und Bedeutung der Herpes-simplex-Infektion des Menschen. Münch med Wschr 122: Nr.1.
189. Wassilew SW. 1983. Der natürliche Verlauf von Herpes simplex Typ 2 Primär- und Rezidivinfektion und seine Beeinflussung durch Virostatika. Hautarzt 1983 (IV), 34: 160-162.
190. Wassilew SW. 1983. Möglichkeiten und Grenzen der Chemotherapie bei Erkrankungen durch das Herpes simplex- und Varizella-Zoster-Virus. Hautarzt 34: 1-5.
191. Watson DH. 1973. Morphology. In: The herpesvirus. Kaplan AS. New York-London: Academic Press p. 27-43.
192. Weitgasser H. 1973. Neue Behandlungsmöglichkeiten des Herpes simplex in der dermatologischen Praxis. Hautarzt 24: 298-301.
193. Weller TH. 1953. Serial propagation in vitro of agents producing inclusion bodies derived from varicella and herpes zoster. Proc Soc Exp Biol Med 83: 340.
194. Weller HT, Witton HM, Bell EJ. 1958. The etiologic agents of varicella and herpes zoster. Isolation, propagation, and cultural characteristics in vitro. J Exp Med 108: 843-868.

195. Weller TH. 1971. The Cytomegalovirus: Ubiquitous Agents with protean Clinical Manifestations. N Engl J Med 285: 203-214, 267-274.
196. Weller TH. 1983. Varicella and Herpes Zoster. N Engl J Med. 309: 1362-1368, 1434-1439.
197. Wildy P, Russel WC, Horne RW. 1960. The Morphology of Herpes Virus. Virology 12: 204-222.
198. Wildy P, Field HJ, Nash AA. Classical herpes virus latency revisited. In: Malny BWJ, Monson AC, Darby KG (eds) Viruspersistence Symposion 33. Soc Gen Microbiol, Cambridge, Univ. Press, p. 133.
199. Williams MG, Almeida JD, Howatson AF. 1962. Electron microscope studies on viral skin lesions. Arch Derm (chic) 86: 290-297.
200. Willmott FE, Nair HJ. 1978. Genital herpesvirus infection in women attending a venereal disease clinic. Br J Vener Dis 54: 341-343.
201. Wolff HH. 1977. Eczema herpeticum, Eczema vaccinatum, "Eczema verrucatum", "Eczema molluscatum". Hautarzt 28: 98-99.
202. Wolff HH, Gräser H. 1977. Elektronenmikroskopische Schnelldiagnostik bei Viruserkrankungen der Haut. Hautarzt 28: 371-374.
203. Wolff HH. 1985. Elektronenoptische Schnelldiagnose von Hautvirosen. Z Hautkr. 60 (22): 1758-1762.
204. Wolff MH. 1978. The proteins of varicella-zoster virus. Med Microbiol Immunol 166: 21-28.
205. Wolff MH, Büchel F, Gulotta F, Helpap B, Schneeweis KE. 1981. Versuche zum Nachweis der latenten Varizella-Zoster-Virus-Infektion in menschlichen Spinalganglien. Verh Dtsch Ges Pathol 65: 203.
206. Young SK, Rowe NH, Buchanon RA. 1976. A clinical study for the control of a facial mucocutaneous herpes virusinfection. A Characterisation of natural history in a professional school population. Oral Surg 41: 498-507.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco, der mir die Möglichkeit gab, meine Dissertation an seiner Klinik auszuführen.

Für die freundliche Überlassung des Themas und die stete Bereitschaft, Anregungen zu geben, bedanke ich mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. Ch. Schmoeckel.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau E. Januschke und Frau I. Pfab für die "Einführung in die Negativkontrastierung" und das ausgezeichnete photographische Material.

11.0 LEBENS LAUF

- 05.03.1954 Geburt in München
Eltern: Joseph und Maria Hocheneder, geb. Sitz-
berger
Geschwister: Christine und Eduard
Glaubensbekenntnis: römisch-katholisch
- 1960-1967 Volksschule in München
1967-1971 Mittlere Reife, Hermann-Frieb Realschule, München
1971-1972 Anschlußklasse für das Gymnasium
1972-1975 Besuch des Albert-Einstein-Gymnasiums in München
1975 Abitur
- 1975-1979 Ausbildung zum Zahntechniker in München
1979 Gesellenprüfung für das Zahntechnikerhandwerk
- 1979-1980 Zivildienst in der Stiftung Pfennigparade e.V.,
München
- 1980-1982 Laborleiter im Dentallabor Gedenta (Stiftung
Pfennigparade e.V.)
- 1982 Im SS Beginn des Studiums der Zahnheilkunde (LMU)
1983 Geburt meiner Tochter Lisa
1984 Zahnärztliche Vorprüfung (LMU-München)
1985 Heirat mit Maria Therese Hocheneder, geb. Lederle
1985 Geburt meiner Tochter Alena
29.07.1987 Abschluß des Studiums der Zahnheilkunde (LMU) mit dem
Staatsexamen.

